

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BROKOLI (*Brassica oleracea*)
TERHADAP KADAR *Superoxide Dismutase* (SOD) OVARIUM TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus*) GALUR WISTAR YANG DIPAPAR MONOSODIUM
GLUTAMAT (MSG)**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kebidanan**



Oleh :

Novi Dwi Palupi
NIM.155070601111030

**PROGRAM STUDI S1 KEBIDANAN
JURUSAN KEBIDANAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BROKOLI (*Brassica oleracea*)
TERHADAP KADAR *Superoxide Dismutase* (SOD) OVARIUM TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus*) GALUR WISTAR YANG DIPAPAR MONOSODIUM
GLUTAMAT (MSG)**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kebidanan**



Oleh :

Novi Dwi Palupi
NIM.155070601111030

**PROGRAM STUDI S1 KEBIDANAN
JURUSAN KEBIDANAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BROKOLI (*Brassica oleracea*)
TERHADAP KADAR *Superoxide Dismutase* (SOD) OVARIUM TIKUS PUTIH
(*Rattus novergicus*) GALUR WISTAR YANG DIPAPAR MONOSODIUM
GLUTAMAT (MSG)**

Oleh:

**NOVI DWI PALUPI
NIM. 155070601111030**

Telah diuji pada
Hari : Rabu
Tanggal : 22 Mei 2019
dan dinyatakan lulus oleh :

Penguji-I

Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt., M.Si.
NIP. 195408231981032001

Pembimbing-I/Penguji-II

Pembimbing-II/Penguji-III

Dr. dr. Nurdiana, M.Kes.
NIP.195510151986032001

Nur Aini Retno H, SST., M.Keb
NIP. 2018029003202001

Mengetahui,
Ketua Program Studi S1 Kebidanan

Linda Ratna Wati, SST., M.Kes
NIP. 198409132014042001

Tugas Akhir ini kupersembahkan
untuk ibu dan ayah tercinta yang
senantiasa melimpahkan cinta dan
kasih sayangnya untukku

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Novi Dwi Palupi

NIM : 155070601111030

Program Studi: Program Studi S1 Kebidanan

Fakultas Kedokteran

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya. Apabila dikemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tuga Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan saya tersebut.

Malang, 26 Mei 2019

Yang membuat pernyataan,

Novi Dwi Palupi

NIM. 155070601111030

KATA PENGANTAR

Segala puji hanya bagi Allah SWT yang telah memberi petunjuk dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir dengan judul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Brokoli (*Brassica oleracea*) Terhadap Kadar *Superoxide Dismutase* (SOD) Ovarium Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar Yang Dipapar Monosodium Glutamat (MSG)”.

Ketertarikan penulis akan topik ini didasari oleh fakta bahwa penggunaan monosodium glutamat (MSG) sebagai bahan penyedap makanan semakin meningkat. Konsumsi MSG yang terus meningkat berdampak buruk bagi kesehatan, khususnya kesehatan reproduksi karena konsumsi MSG yang berlebih akan menghasilkan radikal bebas yang berbahaya bagi tubuh. Radikal bebas tersebut apabila semakin meningkat akan menyebabkan stress oksidatif yang menyebabkan kematian sel dan gangguan fungsi organ termasuk organ ovarium. Terganggunya organ ovarium akan berdampak negatif, yaitu gangguan ovulasi yang berdampak infertilitas bagi wanita.

Dengan selesainya Tugas Akhir ini, penulis mengucapkan terima kasih yang tidak terhingga kepada:

1. Dr. dr Nurdiana, M. Kes. sebagai pembimbing pertama yang telah memberikan bantuan dan dengan sabar membimbing untuk bisa menulis dengan baik, dan senantiasa memberi semangat, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
2. Nur Aini Retno Hastuti, SST, M.Keb. sebagai pembimbing kedua yang dengan sabar telah membimbing penulisan dan analisi data, dan

senantiasa memberi semangat, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.

3. Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt., M.Si. sebagai Penguji I Ujian Tugas Akhir yang telah memberikan masukan untuk menyempurnakan naskah Tugas Akhir.
4. Linda Ratna Wati, SST., M.Kes sebagai ketua Program Studi Kebidanan yang telah membimbing penulis menuntut ilmu di Program Studi Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
5. Dr. dr. Wisnu Barlianto. M.si. Med. Sp.A (K) sebagai dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan penulis kesempatan menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
6. Segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir FKUB, yang telah membantu melancarkan urusan administrasi, sehingga penulis dapat melaksanakan Tugas Akhir dengan lancar.
7. Segenap anggota Tim Laboratorium Parasitologi dan Laboratorium Farmakologi, yang telah membantu melancarkan penelitian, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir dengan lancar.
8. Ibu Susiati dan bapak Suprianto serta Fitri, Eko dan Vicko dan Bima atas segala pengertian, dan kasih sayangnya serta senantiasa mendukung, memberi semangat dan mendoakan, sehingga penulis bisa menyelesaikan penelitian ini
9. Fathan, Nadya, Nova, Flora, Yusnia, Silvi yang selalu memberi semangat dan selalu memberi motivasi untuk terus semangat dalam berbagai keadaan

10. Seluruh anggota kelompok penelitian Brokoli, Onnitia, There, Annisa, dan Flora yang selalu memberi semangat dan selalu memberi motivasi untuk terus semangat dalam berbagai keadaan
11. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa tugas akhir ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis membuka diri untuk segala saran dan kritik yang membangun.

Akhirnya, semoga Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, 19 Mei 2019

Penulis

ABSTRAK

Palupi, Novi,Dwi. 2019. ***Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Brokoli (Brassica oleracea) Terhadap Kadar Superoxide Dismutase (SOD) Ovarium Tikus Putih (Rattus norvegicus) Galur Wistar Yang Dipapar Monosodium Glutamat (MSG).*** Tugas Akhir; Program Studi S-1 Kebidanan, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya . Pembimbing: (1) Dr. dr. Nurdiana, M.Kes., (2) Nur Aini Retno H, SST, M.Keb.

Konsumsi monosodium glutamat (MSG) berlebihan akan menstimulasi pembentukan radikal bebas. Pada dasarnya dalam tubuh terdapat mekanisme perlindungan diri dari radikal bebas menggunakan antioksidan endogen, salah satunya *Superoxide dismutase* (SOD). Namun, apabila kadar radikal bebas dengan kadar antioksidan tidak seimbang akan menyebabkan terjadinya stres oksidatif yang dapat mengganggu fungsi organ ovarium. Sehingga, tubuh memerlukan antioksidan eksogen, salah satunya adalah brokoli (*Brassica oleracea*). Brokoli mengandung senyawa *flavonoid* yang akan menstabilkan radikal bebas. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol brokoli terhadap peningkatan kadar SOD ovarium tikus putih yang dipapar MSG. Penelitian ini menggunakan rancangan *post test only control group design* selama 35 hari (7 hari adaptasi dan 28 perlakuan) dengan sampel sebanyak 30 tikus dan dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu K- tanpa paparan MSG dan ekstrak etanol brokoli, K+ dipapar MSG 0,7 mg/gBB tanpa ekstrak etanol brokoli dan P1, P2 dan P3 dipapar MSG 0,7 mg/gBB dan ekstrak etanol brokoli 500 mg/KgBB, 1000 mg/KgBB dan 2000 mg/KgBB. Pada hari ke-29 dilakukan terminasi pada tikus yang mengalami fase proestrus. Pengukuran kadar SOD menggunakan spektrofotometer. Analisis data menggunakan ANOVA, *Post Hoc Tukey*, dan *Spearman rank*. Hasil penelitian menunjukkan $p < 0,05$ sehingga terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol brokoli terhadap peningkatan kadar SOD ovarium, kadar SOD kelompok P1, P2, dan P3 meningkat secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif, serta dosis efektif pemberian ekstrak etanol brokoli yang mampu meningkatkan kadar SOD ovarium adalah dosis 2000 mg/KgBB. Dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol brokoli dapat meningkatkan kadar SOD ovarium tikus putih yang dipapar MSG.

Kata kunci: Monosodium Glumat, Brokoli, *Superoxida Dismutase*, Radikal bebas

ABSTRACT

Palupi, Novi, Dwi; 2019. **The Effect Of Giving Ethanol Broccoli (*Brassica oleracea*) Extract On Levels Superoxide Dismutase (SOD) Ovarian of White Rat (*Rattus norvegicus*) Wistar Exposed Monosodium Glutamate (MSG)**. Final Assignment; Midwifery Study Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors: (1) Dr. dr. Nurdiana, M.Kes., (2) Nur Aini Retno H, SST, M.Keb.

Excessive consumption of MSG will stimulate free radicals. Basically in the body there is a mechanism of self-protection from free radicals using endogenous antioxidants, one of which is *Superoxide dismutase* (SOD). However, if the levels of free radicals with unbalanced antioxidant levels will cause oxidative stress which can interfere with the function of ovarian organs. So, the body needs exogenous antioxidants, one of which is broccoli (*Brassica oleracea*). Broccoli contains *flavonoid* which will stabilize free radicals. The purpose of this study was to research the effect of giving broccoli ethanol extract for increase ovarian SOD levels in rats exposed MSG. The study used post test only control group design for 35 days (7 days of adaptation and 28 preparations) with sample of 30 rats and divided into 5 groups, that is a K- without exposure MSG and broccoli ethanol extract, K+ exposed MSG 0,7 mg/gBB without broccoli ethanol extract and P1, P2, P3 exposed MSG 0,7 mg/gBB and broccoli ethanol extract 500 mg/KgBB, 1000 mg/KgBB, and 2000 mg/KgBB. Day 29 rat in the proestrus phase will surgery. Measurement of SOD levels using a spectrophotometer. Data analysis ANOVA, *Tukey's Post Hoc*, and *Spearman rank*. The results showed $p < 0,05$ that there was an effect of giving broccoli ethanol extract to increase in ovarian SOD levels, SOD levels of group P1, P2, P3 increased significantly compared to the negative control group. This study concluded that broccoli ethanol extract can increase ovarian SOD levels in rats exposed MSG.

Keyword: Monosodium Glutamate, Broccoli, *Superoxide Dismutase*, Free radicals

DAFTAR ISI

Halaman

JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	v
KATA PENGANTAR	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
DAFTAR SINGKATAN	xviii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Manfaat Akademik	5
1.4.2 Manfaat Praktis	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Monosodium Glutamat	7
2.1.1 Definisi Monosodium Glutamat (MSG)	7
2.1.2 Fungsi Monosodium Glutamat (MSG)	7
2.1.3 Efek Toksis Monosodium Glutamat (MSG)	8
2.1.4 Metabolisme Monosodium Glutamat (MSG)	10
2.2 Radikal Bebas	11
2.2.1 Definisi Radikal Bebas	11
2.2.2 Jenis-Jenis Radikal Bebas	11

2.2.3	Sumber Radikal Bebas.....	12
2.2.4	Manfaat Radikal Bebas	13
2.3	Antioksidan	14
2.3.1	Definisi Antioksidan.	14
2.3.2	Jenis Antioksidan.....	14
2.3.3	Sumber Antioksidan.....	15
2.3.4	<i>Superoxide Dismutase</i> (SOD)	16
2.3.5	Flavonoid Sebagai Antioksidan.....	17
2.3.6	Estrogen Sebagai Antioksidan	19
2.4	Brokoli (<i>Brassica oleracea</i>).....	19
2.4.1	Definisi Brokoli (<i>Brassica oleracea</i>).....	20
2.4.2	Kalsifikasi Brokoli (<i>Brassica oleracea</i>)	20
2.4.3	Deskripsi dan Jenis Tanaman Brokoli (<i>Brassica oleracea</i>)	21
2.4.4	Habitat dan penyebaran Brokoli (<i>Brassica oleracea</i>)	21
2.4.5	Kandungan Brokoli (<i>Brassica oleracea</i>)	21
2.4.6	Potensi Brokoli (<i>Brassica oleracea</i>) Sebagai Antioksidan	23
2.4.7	Manfaat Brokoli (<i>Brassica oleracea</i>) Sebagai Antioksidan	23
2.5	Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	24
2.5.1	Gambaran Umum Hewan Uji.....	24
2.5.2	Kalsifikasi Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	25
2.5.3	Sistem Reproduksi Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Betina	26
BAB 3	KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN.....	30
3.1	Kerangka Konsep	30
3.2	Hipotesis Penelitian	33
BAB 4	METODE PENELITIAN.....	34
4.1	Rancangan Penelitian	34
4.2	Populasi dan Sampel	34
4.2.1	Pemilihan Populasi dan Sampel	34
4.2.2	Jumlah Sampel	35
4.3	Variabel Penelitian.....	36
4.3.1	Variabel Independent.....	36
4.3.2	Variabel Dependent	36
4.4	Waktu dan Tempat Penelitian	37

4.4.1	Tempat Penelitian	37
4.4.2	Waktu Penelitian.....	37
4.5	Alat dan Bahan Penelitian	37
4.5.1	Alat dan Bahan ur Pemeliharaan Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	37
4.5.2	Alat dan Bahan untuk Pembuatan Ekstrak Brokoli (<i>Brassica oleracea</i>)	37
4.5.3	Alat dan Bahan untuk Pembuatan Dosis Monosodium Glutamat (MSG)	38
4.5.4	Alat dan Bahan untuk Pembuatan Dosis Ekstrak Etanol Brokoli (<i>Brassica oleracea</i>)	38
4.5.5	Alat dan Bahan untuk Pemberian Ekstrak Etanol Brokoli dan Monosodium Glutamat (MSG).....	39
4.5.6	Alat dan Bahan untuk Swab Vagina Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	39
4.5.7	Alat dan Bahan untuk Terminasi Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	40
4.5.8	Alat dan Bahan untuk Pembuatan Preparat Ovarium Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	40
4.5.9	Alat dan Bahan untuk Pengukuran Kadar SOD Ovarium Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	41
4.6	Definisi Operasional.....	42
4.7	Prosedur Penelitian.....	42
4.7.1	Pembuatan Ekstrak Brokoli (<i>Brassica oleracea</i>)	42
4.7.2	Pembuatan Larutan Ekstrak Etanol Brokoli (<i>Brassica oleracea</i>)	43
4.7.3	Pembuatan Larutan Monosodium Glutamat (MSG).....	45
4.7.4	Pembagian Kelompok Hewan Coba	46
4.7.5	Adaptasi Hewan Coba	47
4.7.6	Pemberian Larutan Monosodium Glutamat dan Ekstrak Etanol Brokoli (<i>Brassica oleracea</i>)	48
4.7.7	Swab Vagina Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	48
4.7.8	Terminasi Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	49
4.7.9	Pembuatan Preparat Ovarium Tikus Putih (<i>Rattus nobvergicus</i>)	49
4.7.10	Pengukuran Kadar Superoxide Dismutase (SOD) Ovarium Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) dengan Metode Spektrofotometri.....	50

4.8 Analisis Data	50
4.9 Alur Penelitian	52
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	53
BAB 6 PEMBAHASAN	59
BAB 7 PENUTUP	64
7.1 Kesimpulan	64
7.2 Saran	65
7.2.1 Penelitian Selanjutnya	65
7.2.2 Masyarakat	65
DAFTAR PUSTAKA	66
LAMPIRAN	71

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Brokoli.....	20
Gambar 2.2 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	25
Gambar 2.3 Struktur Organ Reproduksi Tikus Putih	27
Gambar 2.4 Gambaran Hasil Swab Vagina Siklus Estrus Tikus	29
Gambar 3.1 Kerangka Konsep.....	30
Gambar 4.1 Alur Penelitian.....	52
Gambar 5.1 Hasil Rerata Dan Standar Deviasi Kadar SOD	55

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 2.1	Jenis Radikal Bebas	12
Tabel 2.2	Sumber Makanan Yang Mengandung Gugus Flavonoid	18
Tabel 2.3	Nilai Gizi Brokoli Dalam 100 gram	22
Tabel 5.1	Hasil Uji Normalitas Kadar SOD Ovarium Tikus	54
Tabel 5.2	Hasil Uji Homogenitas Kadar SOD Ovarium Tikus.....	55
Tabel 5.3	Hasil Uji ANOVA Kadar SOD Ovarium Tikus.....	56
Tabel 5.4	Hasil Uji Post Hoc Kadar SOD Ovarium Tikus.....	57

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1: Dokumentasi Kegiatan.....	71
Lampiran 2: Data Pengukuran SOD.....	78
Lampiran 3: Hasil Analisa Data.....	79
Lampiran 4: Surat Keterangan Laik Etik.....	82
Lampiran 5: Surat Keterangan Plagiasi.....	83
Lampiran 6: Lembar Konsultasi Dosen Pembimbing.....	84

DAFTAR SINGKATAN

MSG	: Monosodium Glutamat
FASEB	: <i>Federation of American Societies For Experimental Biology</i>
NMDA	: <i>N-methly-D-aspartate</i>
SOD	: <i>Superoxide Dismutase</i>
GnRH	: <i>Gonadotropin releasing hormone</i>
FSH	: <i>Follicle Stimulating Hormone</i>
LH	: <i>Luteinizing Hormone</i>
DNA	: <i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
NADPH	: <i>Nikotinamida Adenosin Dinukleotida Hidrogen</i>
NO ⁻	: <i>Nitrit Oksida</i>
CAT	: <i>Catalase</i>
GP _x	: <i>Glutathione peroxidase</i>
GR _x	: <i>Glutathione reductase</i>
O ₂ ⁻	: <i>Superoxide anion</i>
H ₂ O ₂	: Hidrogen Peroksida
ROS	: <i>Reactive oxygen species</i>
ORAC	: <i>Oxygen radical absorbance capacity</i>
mNOS	: <i>Neuronal nitric oxidase</i>
ANOVA	: Analysis of Variance

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pada tahun 2015 pertumbuhan industri makanan dan minuman menempati urutan kedua tertinggi setelah industri barang logam dengan presentase sebesar 7,54 persen (Kementerian Perindustrian Republik Indonesia, 2015). Pertumbuhan industri makanan mengakibatkan konsumsi masyarakat semakin beragam. Masyarakat cenderung lebih memilih makan cepat saji yang identik dengan penyedap rasa seperti, monosodium glutamat (MSG). Pada dasarnya semakin banyak mengonsumsi makanan cepat saji maka monosodium glutamat (MSG) yang dikonsumsi akan lebih banyak pula.

Konsumsi rata-rata MSG masyarakat Indonesia sekitar 300 gram per tahun, sedangkan untuk konsumsi harian masyarakat Indonesia rata-rata sebesar 0,5 – 1,5 gram perhari (Tobing, 2009). Berdasarkan laporan *Federation of American Societies For Experimental Biology* (FASEB) setelah mengonsumsi MSG lebih dari 3 gr/hari terdapat beberapa individu yang mengalami gejala *Chinese Restaurant Syndrome* (Walker, 2000).

Konsumsi MSG berlebihan dapat meningkatkan kadar glutamat dalam plasma. Walker dan Lupien (2000) menyebutkan bahwa, kadar glutamat dalam darah manusia mulai meningkat setelah mengonsumsi MSG sebanyak 30 mg/kgBB/hari. Pada dasarnya, di otak dapat memproduksi glutamat yang berfungsi sebagai neurotransmitter untuk menjalankan rangsangan antar neuron (Husarova et al, 2013). Namun, peningkatan

glutamat dalam plasma yang terakumulasi di sinaps menyebabkan *excitotoxicity* pada otak (Ardyanto, 2004). Peningkatan glutamat dalam plasma menyebabkan stimulasi berlebih pada reseptor glutamat NMDA yang dapat menstimulasi terbentuknya senyawa radikal bebas melalui mekanisme peningkatan Ca^{2+} dalam mitokondria dan sitoplasma. Peningkatan kadar Ca^{2+} dapat menstimulasi pembentukan *nitrit oxide* yang merupakan salah satu jenis radikal bebas (Razali, 2015; Yueniwati, 2015). Selain *nitrit oxide*, mengonsumsi MSG secara terus-menerus dapat meningkatkan terbentuknya radikal peroksida lipid, dimana jika kadarnya meningkat dapat menyebabkan stres oksidatif. Penelitian yang dilakukan oleh Onyema *et al.*, (2006) dan Contini *et al.*, (2012) menyebutkan bahwa konsumsi MSG dengan dosis 4 mg/gBB pada tikus dapat menyebabkan penurunan kadar *glutathione* dan *superoxide dismutase* (SOD) yang berfungsi sebagai perlindungan tubuh terhadap radikal bebas.

Konsumsi MSG yang berlebihan dapat menimbulkan dampak merugikan bagi tubuh. Dampak penggunaan MSG adalah timbulnya gejala seperti: aritmia, takikardi, tekanan darah menurun atau meningkat, asma, nyeri dada, pusing, diare, mual, muntah (Arisman, 2009). Selain itu, radikal bebas yang terbentuk setelah mengonsumsi MSG akan merusak protein, sel, jaringan dan organ pada tubuh (Dhiru, 2013). Salah satunya adalah gangguan pada organ reproduksi, yaitu ovarium yang dapat mempengaruhi fertilitas. Septadina pada tahun 2011 menyebutkan bahwa pemberian MSG dengan dosis berlebihan dapat menghasilkan radikal bebas yang dapat menyebabkan penurunan jumlah folikel dan beberapa kerusakan pada sel-sel di dalam ovarium.

Kerusakan pada beberapa organ akibat radikal bebas berdampak buruk bagi kesehatan, sehingga dibutuhkan antioksidan untuk menangkal radikal bebas dari MSG (Ramayulis, 2015). Terdapat 2 jenis antioksidan, yaitu antioksidan eksogen, misalnya vitamin C dan vitamin E, beta karoten, selenium, serta zinc. Antioksidan endogen biasanya disebut dengan antioksidan intrasel dalam bentuk enzim, yaitu *catalase*, *glutathione peroksidase*, dan *superoksida dismutase* (SOD) (Dhiru, 2013). Antioksidan endogen berfungsi sebagai antioksidan alami dalam tubuh. Namun, jika kadar radikal bebas dalam tubuh berlebihan maka antioksidan yang berfungsi untuk memeranginya tidak seimbang. Oleh sebab itu, tubuh memerlukan antioksidan dari luar untuk menangkal peningkatan radikal bebas.

Melihat banyaknya penggunaan MSG dalam kehidupan sehari-hari yang dapat menyebabkan peningkatan radikal bebas, oleh karena itu peneliti ingin memberikan alternatif untuk mengurangi radikal bebas dengan memberikan antioksidan eksogen. Salah satu sumber antioksidan eksogen yang memiliki aktivitas antioksidan tinggi yaitu brokoli (*Brassica oleracea*). Brokoli mengandung air, protein, lemak, karbohidrat, serat, kalsium, zat besi, vitamin (A, C, E), beta karoten, dan *glutathione* (Dalimartha, 2000). Brokoli mengandung senyawa fenolik yaitu flavonoid dalam jumlah yang tinggi. Senyawa flavonoid yang terkandung dalam brokoli adalah asam hidroksinan, glikosinolat, polifenol, dan sulforafan (Ramayulis, 2015). Kandungan flavonoid pada brokoli akan menyumbangkan satu atom hidrogennya untuk menstabilkan radikal bebas (Prochazkova et al, 2013). Flavonoid merupakan senyawa fitoestrogen yaitu, senyawa yang ada

dalam tanaman yang memiliki struktur dan fungsi mirip dengan estrogen (Biben, 2012). Dimana salah satu fungsi estrogen dapat mencegah stress oksidatif dengan efek vasoprotektif sehingga dapat menstimulasi Mn-SOD atau dapat mengupregulasi antioksidan (Strehlow et al, 2003). Selain bekerja melalui reseptor estrogen, fitoestrogen juga memiliki efek biologis lainnya yaitu dapat menangkal radikal bebas dengan menstimulasi pembentukan enzim antioksidan (Sirotkin, 2014).

Pada saat ini belum banyak penelitian yang menunjukkan efek brokoli sebagai antioksidan yang dapat meminimalisir radikal bebas akibat penggunaan monosodium glutamat (MSG). Sehingga perlu diteliti apakah ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) dapat meningkatkan kadar *Superoxida dismutase* (SOD) ovarium tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar yang dipapar monosodium glutamat (MSG).

1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) dapat meningkatkan kadar *Superoxida dismutase* (SOD) ovarium tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar yang dipapar monosodium glutamat (MSG).

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) terhadap kadar *Superoxida dismutase* (SOD) ovarium tikus

putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar yang dipapar monosodium glutamat (MSG).

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui pengaruh pemberian Monosodium Glutamat (MSG) terhadap penurunan kadar *Superoxide dismutase* (SOD) ovarium tikus putih (*Rattus norvegicus*).
2. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) terhadap kenaikan kadar *Superoxide dismutase* (SOD) ovarium tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar yang dipapar MSG.
3. Menentukan dosis efektif pemberian ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) dalam meningkatkan kadar *Superoxide dismutase* (SOD) ovarium tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar yang dipapar MSG.
4. Menentukan hubungan antara pemberian ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) berbagai dosis dengan peningkatan kadar *Superoxide dismutase* (SOD) ovarium tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar yang dipapar MSG.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

1. Menambah ilmu pengetahuan tentang pengaruh pemberian ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) terhadap peningkatan kadar *Superoxida dismutase* (SOD) ovarium tikus putih (*Rattus*

norvegicus) galur wistar yang dipapar monosodium glutamat (MSG).

2. Menumbuhkan minat mahasiswa kebidanan untuk meneliti lebih dalam tentang pengaruh paparan monosodium glutamat (MSG) terhadap kerusakan organ ovarium.

1.4.2 Manfaat Praktis

1. Memberikan informasi kepada masyarakat mengenai pengaruh MSG terhadap kadar *Superoxida dismutase* (SOD) yang berpengaruh terhadap fungsi tubuh.
2. Sebagai bahan informasi tentang manfaat dari brokoli (*Brassica oleracea*) sebagai antioksidan.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Monosodium Glutamat

2.1.1 Definisi Monosodium Glutamat (MSG)

Monosodium glutamat (MSG) atau vetsin merupakan bahan penyedap makanan yang sangat populer di lingkungan ibu rumah tangga dan lingkungan rumah makan (Eka, 2013). Monosodium glutamat (MSG) dibuat melalui proses fermentasi tetes gula (*molase*) oleh bakteri *Brevibacteroi lactofermentum* dengan hasil berupa serbuk kristal murni (Praja, 2015).

Monosodium glutamat umumnya terbuat dari bahan dasar pati, gula jagung, molase, gula tebu atau gula bit. Produksi monosodium glutamat melalui proses fermentasi alami, seperti proses pembuatan yogurt dan pembuatan bir (Singh, 2005).

2.1.2 Fungsi Monosodium Glutamat (MSG)

Monosodium glutamat (MSG) merupakan garam natrium dari asam glutamat. Glutamat sendiri hampir ditemukan di semua makanan, terutama makanan yang mengandung protein tinggi seperti produk susu, daging dan ikan, serta sayuran (Yonata dan Indah, 2016). Penambahan monosodium glutamat dalam makanan akan memperkuat rasa yang mirip dengan fungsi glutamat yang terkandung secara alami dalam makanan (Singh, 2005).

Tubuh akan menghasilkan 50 gram glutamat yang digunakan sebagai komponen metabolisme. Glutamat dapat ditemukan

dibeberapa organ seperti otak, ginjal, hati, dan otot. Glutamat dalam otak akan berfungsi sebagai neurotransmitter (Singh, 2005). Glutamat dalam tubuh memiliki beberapa fungsi penting dalam proses metabolisme tubuh menurut Yonata dan Indah (2016), yaitu:

1. Substansi untuk sintesis protein

Glutamat merupakan jenis asam amino yang banyak ditemukan dalam sumber alami, diperkirakan terdapat 10-40% glutamat terkandung dalam protein.

2. Pasangan transaminasi dengan α -ketoglutarate

L-glutamate disintesis dari amonia dan α -ketoglutarate dalam suatu reaksi yang dikatalisir oleh *L-glutamate dehydrogenase* (siklus asam sitrat), reaksi ini merupakan reaksi penting dalam biosintesis seluruh asam amino.

3. Prekursor glutamin

Glutamin dibentuk dari glutamat oleh *glutamin sintetase*, proses ini merupakan proses yang penting dalam metabolisme asam amino.

4. Neurotransmitter

Glutamat merupakan neurotransmitter pada otak yang berfungsi sebagai mediator untuk menyampaikan transmisi post-sinaptik.

2.1.3 Efek Toksis Monosodium Glutamat (MSG)

Penggunaan monosodium glutamat (MSG) sebagai penyedap makanan telah digunakan sejak lama. Konsumsi monosodium glutamat dapat menambah kadar glutamat dalam tubuh, dalam

kadar yang rendah glutamat memiliki efek toksisitas yang rendah (Walker and Lupien, 2000). Namun, pada tahun 1969 Schaumberg melaporkan adanya sindroma restoran cina setelah mengkonsumsi MSG dalam jumlah yang banyak. Terdapat beberapa gejala yang muncul ketika seseorang mengalami sindrom restoran cina, seperti: rasa panas, rasa tertusuk-tusuk diwajah dan leher, dada sesak, mual dan muntah, rasa terbakar pada leher (Ratnani, 2009; Ganguly, 2017). Kandungan garam pada MSG dapat memenuhi kebutuhan garam dalam tubuh sekitar 20-30%, sehingga hal ini menyebabkan kadar garam dalam darah tinggi (Yonata dan Indah, 2016).

Pada keadaan normal, glutamat diusahakan untuk tetap dipertahankan dalam keadaan rendah melalui proses *uptake* pada sel glia dan neuron yang berlangsung secara aktif untuk menghentikan efek eksitotoksik dari glutamat yang dilepaskan di celah sinaps. Bila proses *uptake* ini terganggu, maka glutamat dengan kadar yang tinggi akan terakumulasi dalam sinaps. Akumulasi glutamat menyebabkan stimulasi berlebih pada reseptor glutamat NMDA yang akan menyebabkan peningkatan ion kalsium (Ca^{2+}). Pada kondisi patologis, kelebihan ion kalsium akan mengaktifasi beberapa jalur yang menyebabkan kematian sel (Razali, 2014). Penelitian yang dilakukan oleh Onyema *et al.*, pada tahun 2005 menyebutkan bahwa konsumsi MSG 4 mg/gBB pada tikus selama 10 hari secara signifikan dapat menstimulasi pembentukan lipid peroxida serta penurunan kadar glutathion.

Penurunan kadar *glutathione* akan menggambarkan kerusakan jaringan, karena *glutathione* berfungsi sebagai penangkal radikal bebas (Onyema et al, 2005).

Dampak bagi kesehatan reproduksi adalah terganggunya perkembangan folikel primer menjadi folikel sekunder. Glutamat akan menyebabkan gangguan hormonal, jika kadar glutamat tinggi menyebabkan nekrosis pada sel neuronal hipotalamus khususnya nukleus arkuata (Husarova and Daniela, 2013). Gangguan pada hipotalamus akan menyebabkan terganggunya sekresi *Gonadotropin releasing hormone* (GnRH) yang selanjutnya akan mengganggu hipofisis anterior dalam memproduksi FSH dan LH. Gangguan hormonal ini menyebabkan perkembangan folikel menjadi tidak normal dan banyak yang mengalami atretik. Selain itu, gangguan hormonal akan menyebabkan pembesaran antrum terganggu dan pembentukan sel granulosa yang merata disekeliling tepi folikel menjadi tidak maksimal. Kerusakan sel granulosa akan menyebabkan kerusakan pada sel telur, sebab sel granulosa berfungsi mensuplai makanan pada sel telur (Septadina, 2011).

2.1.4 Metabolisme Monosodium Glutamat (MSG)

Asam glutamat merupakan asam amino yang dapat dimetabolisme dalam jaringan otak. Asam glutamat berperan dalam pengambilan amonia dan membentuk glutamin, yang akan dikeluarkan dalam plasma untuk di metabolisme oleh hati (Saunders and Philadelphia, 1987).

Konsumsi glutamat yang terkandung dalam MSG akan diabsorpsi oleh sel saluran pencernaan dalam sel mukosa usus. Sedangkan, glutamat yang tidak dimetabolisme di saluran cerna akan dimetabolisme oleh hati, menghasilkan energi melalui siklus Krebs atau akan diubah menjadi urea (Maluly et al, 2017).

2.2 Radikal Bebas

2.2.1 Definisi Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan molekul reaktif yang memiliki elektron yang tidak berpasangan. Semua jenis radikal bebas akan memiliki kesempatan yang sama untuk berikatan dengan molekul biologis dalam tubuh, seperti molekul protein, lipid, bahkan molekul DNA. Ikatan antara radikal bebas dengan molekul biologis dalam tubuh akan menimbulkan reaksi yang dapat merusak molekul tersebut bahkan dapat menimbulkan kematian sel (Dharma, 2012).

Radikal bebas sangat reaktif dan dapat menyebabkan reaksi berantai dengan mengekstraksi sebuah elektron dari molekul lain didekatnya untuk melengkapi orbitalnya sendiri. Sehingga, radikal bebas mampu bereaksi dengan setiap molekul yang kontak langsung dengannya. Radikal bebas akan menarik elektron dan membentuk radikal bebas baru (Marks et al, 2000).

2.2.2 Jenis-Jenis Radikal Bebas

Radikal bebas memiliki molekul dengan satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas terbentuk melalui

kerusakan ikatan kimia pada suatu molekul yang menyebabkan setiap fragmen menyimpan satu elektron.

Tabel 2.1 Jenis Radikal Bebas (Pham-Huy et al, 2008)

Radikal Bebas	Simbol
Hydroxyl	OH^\cdot
Superoxide	O_2^\cdot
Nitric oxide	NO^\cdot
Nitrogen dioxide	NO_2^\cdot
Peroxyl	ROO^\cdot
Lipid peroxyl	LOO^\cdot
Hydrogen peroxide	H_2O_2
Ozone	O_3
Singlet oxygen	$^1\text{O}_2$
Hypochlorous acid	HOCl
Nitrous acid	HNO_2
Peroxynitrite	ONOO^\cdot
Dinitrogen trioxide	N_2O_3
Lipid peroxide	LOOH

2.2.3 Sumber Radikal Bebas

Radikal bebas dihasilkan melalui dua sumber yaitu sumber dari luar tubuh (eksogen) dan sumber dari dalam tubuh (endogen). Radikal bebas endogen dihasilkan melalui aktivitas sel yang terus-menerus, peradangan, stres, iskemia, infeksi. Sedangkan, radikal bebas eksogen dihasilkan dari polusi udara, air, asap rokok, alkohol, logam berat atau transisi (Cd, Hg, Pb, Fe, As), bahan tambahan dalam masakan dan radiasi (Pham-Huy et al, 2008).

Pembentukan radikal bebas dapat terjadi melalui 2 mekanisme, yaitu reaksi enzimatik dan reaksi non enzimatik. Reaksi enzimatik yang dapat menghasilkan radikal bebas adalah radikal bebas yang terlibat dalam rantai pernapasan, fagositosis, sintesis

prostaglandin dan sistem sitokrom P_{450} . Misalnya, superoksida yang dihasilkan melalui beberapa sistem oksidasi seluler, yaitu oksidasi NADPH, oksidasi xanthine, peroksida dan radikal bebas hidroksil yang dihasilkan dari reaksi O_2 . Sedangkan, reaksi non-enzimatik yang dapat menghasilkan radikal bebas adalah senyawa organik yang dipicu dengan adanya radiasi (Mohammed et al, 2015).

Menurut Winarsih (2007) pembentukan radikal bebas akan terbentuk setiap saat dalam berbagai kegiatan, namun secara umum pembentukan radikal bebas dipengaruhi oleh beberapa faktor lingkungan, yaitu:

1. Pestisida atau karbon tetraklorida, senyawa ini setelah masuk dalam tubuh akan berikatan dengan sitokrom P_{450} monooksigenase dan menghasilkan radikal triklorometil ($CCl_3\cdot$) dan triklorometilperoksil ($CCl_3O_2\cdot$)
2. Senyawa hasil pemanggangan daging berlemak yang disebut benzoapirena. Senyawa ini ketika masuk dalam tubuh akan berubah menjadi senyawa radikal 7,8-diol-9-10 epoksida

Bahan aditif pangan, senyawa radikal bebas yang terbentuk akan berperan sebagai inisiator dalam pembentukan peroksida lipid sehingga menimbulkan kerusakan jaringan

2.2.4 Manfaat Radikal Bebas

Pada konsentrasi yang rendah atau sedang, radikal bebas diperlukan dalam tubuh. Salah satunya, digunakan sebagai sistem pertahanan. Fagosit (neutrofil, makrofag, monosit) akan

melepaskan radikal bebas untuk menghancurkan mikroba patogen yang merupakan mekanisme pertahanan tubuh terhadap suatu penyakit. Selain itu, radikal bebas juga berperan dalam fungsi seluler dimana nitrit oksida (NO^-) dapat berfungsi untuk memodulasi aliran darah, trombosis dan berfungsi dalam aktifitas syaraf (Pham-Huy et al, 2008).

2.3 Antioksidan

2.3.1 Definisi Antioksidan

Tubuh memiliki mekanisme dalam menangkal radikal bebas, yaitu dengan pembentukan antioksidan, baik antioksidan yang dihasilkan dari dalam tubuh (endogen) maupun antioksidan yang didapatkan dari luar tubuh (eksogen). Dimana antioksidan berfungsi melindungi sel dan sistem organ dari radikal bebas (Mohammed et al, 2015)

Antioksidan merupakan zat yang berperan dalam melawan pengaruh berbahaya yang ditimbulkan dari radikal bebas. Antioksidan berfungsi untuk memutus atau menghentikan reaksi berantai dari radikal bebas yang terdapat dalam tubuh. Antioksidan akan memberikan satu elektronnya kepada radikal bebas, sehingga radikal bebas menjadi lebih stabil (Rohmatussolihat, 2009).

2.3.2 Jenis Antioksidan

Antioksidan dapat dibedakan menjadi dua jenis, yaitu antioksidan enzimatis dan antioksidan non-enzimatis. Antioksidan

enzimatis meliputi, *superoxide dismutase* (SOD), *catalase* (CAT), *glutathione peroxidase* (GP_x), dan *glutathione reductase* (GR_x). SOD merupakan pertahanan pertama terhadap radikal bebas, SOD dapat mengkalis *superoxide anion* (O₂⁻) menjadi H₂O₂ yang akan diubah menjadi oksigen dan air oleh *glutathione peroxida* atau *catalase* sehingga lebih stabil (Pham-Huy et al, 2008).

Antioksidan non-enzimatis sendiri dibagi menjadi dua, yaitu antioksidan metabolik dan antioksidan nutrisi. Antioksidan metabolik dihasilkan oleh metabolisme tubuh, seperti asam lipoid, *glutathione*, *L-arginine*, koenzim Q₁₀, melatonin, asam urat, bilirubin, transferin. Sedangkan, antoksidan nutrisi merupakan senyawa yang tidak dapat diproduksi sendiri oleh tubuh sehingga memerlukan asupan dari luar, seperti vitamin E, vitamin C, karotenoid, selenium, mangan, seng, flavonoid, omega 3 dan asam lemak omega 6 (Pham-Huy et al, 2008).

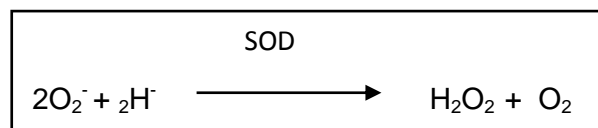
2.3.3 Sumber Antioksidan

Antioksidan alami dapat ditemukan dalam tumbuhan, buah, sayuran, teh, anggur merah, rempah-rempah. Berbagai penelitian menyebutkan bahwa kacang-kacangan seperti, kacang polong, buncis, kedelai merupakan sumber antioksidan dengan kandungan fenoliknya. Selain itu, senyawa fenolik khususnya flavonoid banyak ditemukan dalam sayuran dan buah-buahan. Sayuran yang merupakan sumber antioksidan terbaik adalah brokoli, tomat, cabe merah, bawang merah, bawang putih dan bit merah (Akbarirad et al, 2016).

Keunggulan antioksidan dilihat berdasarkan kapasitas antioksidan yang dimilikinya. Kapasitas antioksidan akan disetarakan dengan vitamin E. Suatu makanan dianggap sebagai sumber antioksidan yang unggul jika kemampuan antioksidanya lebih kuat dibanding dengan vitamin E. Sayuran merupakan salah satu contoh sumber antioksidan karena dalam sayuran mengandung aneka vitamin dan mineral yang memiliki fungsi sebagai antioksidan. Berbagai sayuran yang dapat digunakan, yaitu kubis-kubisan, bayam, cabai, jamur, kentang, tomat, wortel, bit, labu parang, asparagus, terong, selada air, seledri dan spinach (Lingga, 2012).

2.3.4 ***Superoxide Dismutase (SOD)***

Superoxide dismutase (SOD) pertama kali ditemukan oleh Man dan Kleilin pada tahun 1938. Enzim SOD berfungsi sebagai katalisator reaksi dari superoksida menjadi hidrogen peroksida dan oksigen.



SOD terdapat dalam semua organisme aerob, sebab organisme aerob selalu membutuhkan oksigen untuk menunjang kehidupannya. Dalam menjalankan fungsinya, SOD membutuhkan bantuan logam, seperti mangan (Mn), seng (Zn), dan tembaga (Cu). Sehingga, berdasarkan keberadaan logam yang bertindak sebagai kofaktor, SOD dapat dikelompokkan menjadi tiga, yaitu Fe-SOD, Cu/Zn-SOD, dan Mn-SOD (Zulaikhah, 2017).

1. Fe-SOD

Fe-SOD dapat ditemukan dalam kloroplas. Fe-SOD merupakan jenis SOD yang pertama kali ditemukan (Winarsi, 2007).

2. MN-SOD

Mn-SOD dapat ditemukan dalam mitokondria dan peroksisom sel eukariot. Mn-SOD bekerja dengan menarik muatan negatif radikal superoksida (O_2^-) sehingga berubah menjadi positif pada sisi aktifnya. Selanjutnya, sisi aktif logam memberikan 1 elektron kepada O_2^- sehingga mengurangi 1 molekul O_2^- dan diubah menjadi H_2O_2 (Winarsi, 2007).

3. Cu/Zn-SOD

Cu/Zn-SOD dapat ditemukan dalam sitosol dan kloroplas tanaman tingkat tinggi. Ketika keberadaan O_2 dalam jumlah yang banyak, Fe tidak berfungsi sama sekali. Sehingga, digunakan Cu sebagai kofaktor dari sisi aktif SOD. Dalam CuZn-SOD, mineral Cu berfungsi sebagai katalitik enzim, sedangkan Zn berfungsi secara struktural (Winarsi, 2007).

2.3.5 Flavonoid Sebagai Antioksidan

Flavonoid merupakan polifenol yang banyak ditemukan dalam tumbuhan. Berdasarkan struktur kimianya, flavonoid diklasifikasikan menjadi flavanol, flavanon, falvon, isoflavon, katekin, anthocyanin, proanthocyanidins. Flavonoid merupakan antioksidan yang kuat, yang bersumber dari teh hijau, anggur

merah, apel, coklat, kedelai, temulawak, beri, bawang dan brokoli (Pham-Huy et al, 2008).

Kapasitas antioksidan pada flavonoid lebih kuat dibandingkan dengan vitamin C dan E. Flavonoid dapat menangkal radikal bebas dengan beberapa mekanisme, yaitu:

- Menstabilkan *reactive oxygen species* (ROS)
- Mengaktivasi enzim antioksidan
- Mencegah stres oksidatif yang disebabkan oleh *nitrit oxidase*
- Meningkatkan kadar asam urat

Flavonoid akan menstabilkan radikal bebas dengan menyumbangkan atom hidrogennya, sehingga radikal bebas akan menjadi inaktif (Prochazkuva et al, 2011). Setiap gugus flavonoid memiliki kapasitas yang baik sebagai antioksidan. Gugus flavon dan katekin memiliki aktivitas tertinggi dalam menangkal radikal bebas. Mekanisme lain flavonoid dapat menghambat reaksi feton dan Haber-Weis yang merupakan sumber dalam menghasilkan radikal bebas. Flavonoid dapat berfungsi sebagai penangkal radikal bebas secara langsung dan mencegah kerusakan sel yang disebabkan radikal bebas. Kadar kuersetin dapat menurunkan kerusakan setelah terjadinya iskemi, sehingga dapat menghambat pembentukan nitrit oksida (Simanjutak, 2012).

Gugus	Sumber Makanan
-------	----------------

Flavon	Kulit apel, Berries, Brokoli, Celery, Fruit pells, Cranberries, Anggur,
a	Lutttuce, bawang, olives
b	
Flavonon	Buah jeruk
e	
l	
Katekin	Anggur merah, Teh
2	
Antosianin	Barries, Ceri, Anggur, Raspberries, Anggur merah, Stawberi, Teh
2	
Sumber Makanan Yang Mengandung Gugus Flavonoid (Simanjutak, 2012)	

2.3.6 Estrogen Sebagai Antioksidan

Hormon estrogen dapat berfungsi sebagai antioksidan dengan mekanisme vasoprotektifnya. Estrogen berfungsi sebagai antioksidan dengan menstimulasi pembentukan enzim SOD. Estrogen pada konsentrasi normal ditemukan menjadi antioksidan yang kuat dalam mengurangi stress oksidatif (Strechlow et al, 2003).

Flavonoid merupakan salah satu sumber fitoestrogen. Fitoestrogen merupakan kelompok tanaman termasuk biji-bijian, kacang-kacangan, sayuran dan buah-buahan yang menyerupai hormon estrogen atau dapat berinteraksi dengan hormon estrogen. Fitoestrogen telah terbukti memiliki khasiat sebagai antioksidan dengan menghambat hemolisis peroksidase. Selain itu, fitoestrogen juga berdampak pada uterotropik pada uterus binatang coba, berupa pertumbuhan sedikit sel, lendir servik dan uterus. Pada penelitian yang dilakukan pada wanita pramenopause, penggunaan fitoestrogen dapat memperpanjang fase folikuler dan meningkatkan kadar progesteron (Biben, 2012).

2.4 Brokoli (*Brassica oleracea*)

2.4.1 Definisi Brokoli (*Brassica oleracea*)

Brokoli berasal dari *family Brassicaceae* dan banyak dikenal oleh masyarakat Indonesia. Brokoli merupakan kumpulan dari kuntum bunga yang berbentuk gerombolan, mirip dengan kembang kol, perbedaannya hanya pada warna. Brokoli berwarna hijau, sedangkan kembang kol berwarna putih. Bagian yang dikonsumsi adalah bagian atas kepala bunga (Ramayulis, 2015).



Gambar 2.1 Brokoli (Sumber: Farmasi UGM, 2014)

2.4.2 Kalsifikasi Brokoli (*Brassica oleracea*)

Menurut Rukamana (1994) Berdasarkan klasifikasinya, brokoli termasuk ke dalam:

- Divisi : *Spermatophyta*
- Sub divisi : *Angiospermae*
- Klas : *Idicotyledonae*
- Famili : *Cruciferae*
- Genus : *Brassica*
- Spesies : *Brassica oleracea* var. *Botrytis* L.

2.4.3 Deskripsi dan Jenis Tanaman Brokoli (*Brassica oleracea*)

Brokoli sering dimanfaatkan untuk membuat sup penyegar tubuh. Pada tahun 1920 brokoli mulai diperkenalkan ke Boston, Amerika, sehingga lebih dikenal umum. Brokoli merupakan famili *Brassica*, sebagian orang menyebut brokoli sebagai tunas hijau (*green sprouting*) atau brokoli bertunas (*sprouting broccoli*) karena bentuknya menyerupai tunas-tunas hijau (IDE, 2011).

Brokoli memiliki tangkai daun agak panjang dan helai daun berlekuk-lekung memanjang. Tangkai bunga brokoli lebih panjang dan lebih besar dibandingkan dengan kubis. Massa bunga brokoli tersusun secara kompak membentuk bulatan berwarna hijau tua atau hijau kebiru-biruan, dengan diameter antara 15-20 cm atau lebih (Rukamana, 1994).

2.4.4 Habitat dan penyebaran Brokoli (*Brassica oleracea*)

Brokoli digolongkan ke dalam keluarga kubis-kubisan dan termasuk sayuran yang tidak tahan udara panas. Akibatnya, brokoli lebih cocok ditanam di dataran tinggi yang lembab dengan suhu yang rendah. Brokoli juga tidak tahan terhadap hujan yang terus menerus. Jika hal ini terjadi, tanaman brokoli menjadi kekuningan dan jika membusuk warnanya akan berubah menjadi bintik-bintik hitam (Dalimartha, 2005).

2.4.5 Kandungan Brokoli (*Brassica oleracea*)

Brokoli mengandung berbagai zat gizi yang dibutuhkan oleh tubuh. Berdasarkan kandungan gizinya dapat dikatakan bahwa brokoli adalah sumber kalsium, asam folat, dan vitamin C.

Kandungan vitamin C brokoli adalah 87 mg atau setara dengan 116% kecukupan vitamin C yang dianjurkan sehari (Ramayulis, 2015).

Brokoli mengandung air, protein, lemak, karbohidrat, serat, kalsium, zat besi, vitamin (A, C, E, tiamin, riboflavin, nikotinamide), beta karoten, dan *glutathione*. Selain itu, brokoli mengandung senyawa sianohidroksibutena (CHB), sulforafan, dan iberin yang merangsang pembentukan *glutathione* (Dalimartha, 2000).

Brokoli memiliki senyawa fenolik dan flavonoid dalam jumlah yang tinggi yaitu asam hidroksinan, glikosinolat, polifenol, dan sulforafan. Kandungan senyawa fenolik pada brokoli sekitar 15,2 – 121,4 mg untuk setiap 100 gram brokoli. Penelitian menjelaskan bahwa dalam brokoli juga terdapat isolasi suatu senyawa alami yaitu *indole-3-carbinol* yang dapat membantu reproduksi sel, *glukosinolat* dan *dithione* yang dapat membantu menyembuhkan penyakit kulit dan menghambat tumbuhnya sel kanker, serta *isothiocyanates* yang dapat merangsang tubuh memproduksi senyawa antikanker (Ramayulis, 2015).

Warna hijau pada brokoli menandakan bahwa brokoli mengandung klorofil. Klorofil dalam brokoli dapat membantu mencegah mutasi atau perubahan sel (IDE, 2013). Klorofil juga dibantu oleh beta-karoten yang dapat menstabilkan radikal bebas serta mengurangi konsentrasi radikal peroksil yang dapat menyebabkan sel bermutasi secara abnormal (Lingga, 2010).

Tabel 2.3 Nilai gizi brokoli dalam 100 gram dapat dilihat pada tabel dibawah ini (Rizki, 2013; Wirakusumah, 2005).

Kandungan Gizi		Jumlah
2.4.6	P o t e n s i	Energi (kcal)
		22
		Protein (g)
		2,1
		Lemak (g)
		0,1
		Karbohidrat (g)
		4,5
		Kalsium (mg)
		52
		Fosfor (mg)
		54
		Serat (g)
		0,5
		Besi (mg)
		0,8
		Vitamin A (RE)
		210
		Vitamin B1 (mg)
		0,09
		Vitamin B2 (mg)
		0,08

Brokoli (*Brassica oleracea*) Sebagai Antioksidan

Berdasarkan uji aktivitas antioksidan pada brokoli dengan menggunakan metode ABTS (2,2 azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonat) menunjukkan ekstrak metanol bunga brokoli mempunyai nilai IC_{50} sebesar 32,1292 ppm. Menurut Edhisambada (2011) mengatakan bahwa tingkat kekuatan antioksidan dikatakan kuat apabila memiliki nilai IC_{50} lebih kecil dari 50 ppm (Sami dan Sitti, 2015).

2.4.7 Manfaat Brokoli (*Brassica oleracea*) Sebagai Antioksidan

Kubis-kubisan yang banyak mengandung antioksidan adalah brokoli dan sawi hijau. Kapasitas antioksidan yang di miliki brokoli sangat tinggi, sebab brokoli memiliki nilai *Oxygen radical absorbance capacity* (ORAC) yang tergolong unggul, yaitu sebesar 890 (Lingga, 2012).

Angka ORAC yang tinggi pada brokoli tidak terlepas dari beberapa antioksidan yang terkandung dalam brokoli. Komponen antioksidan dalam brokoli, yaitu vitamin A, C, E, sulfur, seng,

mangan, selenium. Kinerja antioksidan dalam brokoli semakin tinggi karena mengandung sulforafan, glucobrassicin, glucoerucin, glucoiberin, asam γ - glutamic, caffeic acid, dan quercetin. Beberapa kandungan tersebut dapat berfungsi untuk melemahkan radikal bebas. Kerja sama antara vitamin dan mineral dalam brokoli menciptakan hubungan yang serasi sebagai antioksidan. Kerja sama ini akan menonaktifkan radikal bebas oksigen dengan cara meningkatkannya dengan sejumlah fitokimia dan kemudian membuangnya keluar tubuh (Lingga, 2012).

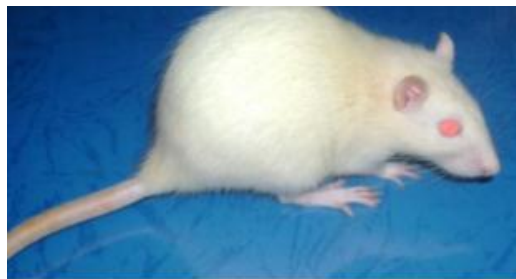
Lebih dari studi menjelaskan bahwa brokoli merupakan sumber antioksidan yang baik. Sulfanofram dan Indole-3-carbinol (I3C) bekerja sama menjaga keseimbangan estrogen alami dengan cara meningkatkan kadar estrogen baik dan menurunkan kadar estrogen buruk. Dimana estrogen juga dapat berfungsi sebagai antioksidan dengan merangsang pembentukan antioksidan (Lingga, 2012).

2.5 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

2.5.1 Gambaran Umum Hewan Uji

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) merupakan hewan yang sering digunakan sebagai hewan uji. Kelebihan tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebagai hewan coba adalah pemeliharaan mudah, memiliki tubuh yang kecil, dan memiliki kemampuan reproduksi yang tinggi dengan waktu kebuntingan singkat. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina merupakan mamalia yang tergolong ovulator

spontan. Pada golongan ini ovulasi terjadi ketika pertengahan siklus estrus yang dipengaruhi oleh lonjakan hormon *Luteinizing hormone* (LH). Tikus termasuk hewan yang bersifat poliestrus, memiliki siklus reproduksi yang sangat pendek. Setiap siklusnya sekitar 4-5 hari (Akbar, 2010).



Gambar 2.2 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) (Akbar, 2010)

2.5.2 Kalsifikasi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Akbar (2010) menyebutkan klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*), yaitu:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Subordo	: Odontoceti
Familia	: Muridae
Genus	: Rattus
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>

2.5.3 Sistem Reproduksi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Betina

Sistem reproduksi betina terdiri atas ovarium dan sistem duktus yang dapat dilihat pada gambar 2.6 tentang struktur organ reproduksi pada tikus. Sistem tersebut tidak hanya menerima telur yang diovulasikan dan membawa ke tempat implantasinya di uterus, tetapi juga menerima sperma dan membawanya ketempat fertilisasi, yaitu oviduk. Pertumbuhan, fungsi otot dan epitel saluran reproduksi dipengaruhi oleh sekresi estrogen dan progesteron oleh ovarium selama siklus ovarium (Akbar, 2010).

a. Ovarium

Ovarium merupakan kelenjar yang berbentuk seperti biji, terletak disebelah kanan dan kiri uterus dibawah tuba uterina dan terikat di sebelah belakang oleh mesovarium. Ovarium merupakan organ untuk menghasilkan sel telur dan hormon reproduksi, yaitu hormon estrogen dan progesteron. Ovarium juga berfungsi sebagai tempat perkembangan folikel, yaitu folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier, folikel de Graaf, korpus rubrum, korpus luteum dan korpus albikan (Akbar, 2010).

b. Oviduk

Oviduk merupakan saluran yang menghubungkan ovarium dengan uterus. Oviduk terdiri dari bagian interstisialis, bagian isthmika, bagian ampularis dan infundibulum yang berfimbria. Oviduk berfungsi sebagai kapasitasi sperma, fertilisasi, ovulasi

dan pembelahan embrio yang terjadi dibagian ampula (Akbar, 2010).

c. Uterus

Uterus merupakan tempat yang digunakan sebagai penerimaan ovum yang telah dibuahi, berfungsi sebagai penyediaan nutrisi, dan melindungi fetus. Dinding uterus terdiri dari 3 lapisan, yaitu membran serosa merupakan lapisan luar yang membungkus uterus yang terdiri dari jaringan ikat. Miometrium merupakan lapisan kedua yang terdiri dari otot polos yang mengandung pembuluh darah dan limpa. Sedangkan, lapisan ketiga adalah endometrium yang merupakan tempat nidasi atau implantasi serta perkembangan embrio bagi tikus yang bunting (Akbar, 2010).

d. Vagina

Vagina merupakan saluran panjang yang terletak di dorsal terhadap uretra dan ventral terhadap rektum. Vagina terbagi menjadi dua bagian, yaitu vestibulum (bagian luar vagina) dan vagina posterior (dari muara uterus sampai serviks). (Akbar, 2010).



Gambar 2.3 Struktural Organ Reproduksi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) (Soimah, 2016)

Siklus estrus merupakan siklus menstruasi yang terjadi pada mamalia. Siklus estrus merupakan satu-satunya waktu dimana perubahan vagina memungkinkan terjadinya perkawinan. Lama siklus estrus tikus hanya 5 hari (Campbell, dkk, 2004). Siklus estrus terdiri atas empat tahapan, yaitu tahap *diestrus*, *proestrus*, *estrus*, dan *metestrus*. Tahapan dari fase estrus yang dialami oleh hewan dapat dilihat dari gambaran sel yang diperoleh melalui hasil apus vagina (Isnaeni, 2006).

Fase proestrus merupakan suatu fase dimana terjadi perkembangan folikel ovarium untuk membentuk folikel de graaf dan produksi hormon estrogen yang berlangsung selama 1 jam. Fase proestrus dapat diamati dari hasil *swab vagina* dengan ciri-ciri jumlah sel epitel berinti berkurang dan tergantikan oleh sel epitel bertanduk, leukosit berkurang dan terdapat mucus yang banyak (Akbar, 2010; Nelly, 2011).

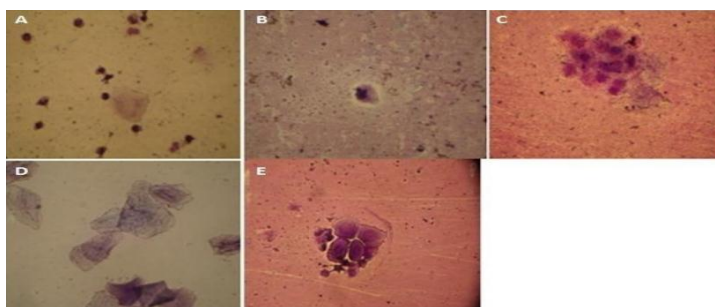
Fase estrus merupakan fase birahi tikus betina yang berlangsung selama 12 jam. Pada siklus estrus akan terjadi ovulasi dan peningkatan hormon estrogen. Fase estrus dapat diamati dengan *swab vagina* dimana akan didapatkan ciri-ciri hilangnya sel epitel berinti dan sel darah putih, terdapat epitel bertanduk yang berukuran besar dan bentuknya tidak beraturan (Akbar, 2010).

Fase metestrus merupakan periode segera setelah fase estrus yang terjadi selama 21 jam. Pada fase metestrus terjadi pertumbuhan cepat pada korpus luteum dan fase ini sebagian

besar dipengaruhi oleh hormon progesteron yang dihasilkan oleh korpus luteum. Selama matestrus uterus akan mempersiapkan diri untuk menerima dan memberi makan embrio. Menjelang pertengahan sampai akhir matestrus, uterus agak lunak karena pengendoran otot uterus. Fase matestrus dapat diamati dengan *swab vagina* dengan ciri-ciri tampak epitel berinti, leukosit, dan jumlah epitel tanduk makin lama makin sedikit (Akbar, 2010).

Diestrus merupakan fase terakhir dari siklus reproduksi tikus yang terjadi selama 48 jam. Fase dietrus dapat dilihat melalui *swab vagina* dengan ciri-ciri terdapat banyak sel darah putih dan epitel berinti yang letaknya tersebar dan homogen (Akbar, 2010).

Setiap fase siklus reproduksi tikus akan terlihat perubahan dan ciri-ciri yang berbeda tiap fase. Gambaran apusan vagina akan menunjukkan setiap fase dari siklus reproduksi tikus betina. Perubahan yang terjadi selama siklus reproduksi tikus betina selama siklus estrus dapat dilihat pada gambar dibawah ini.



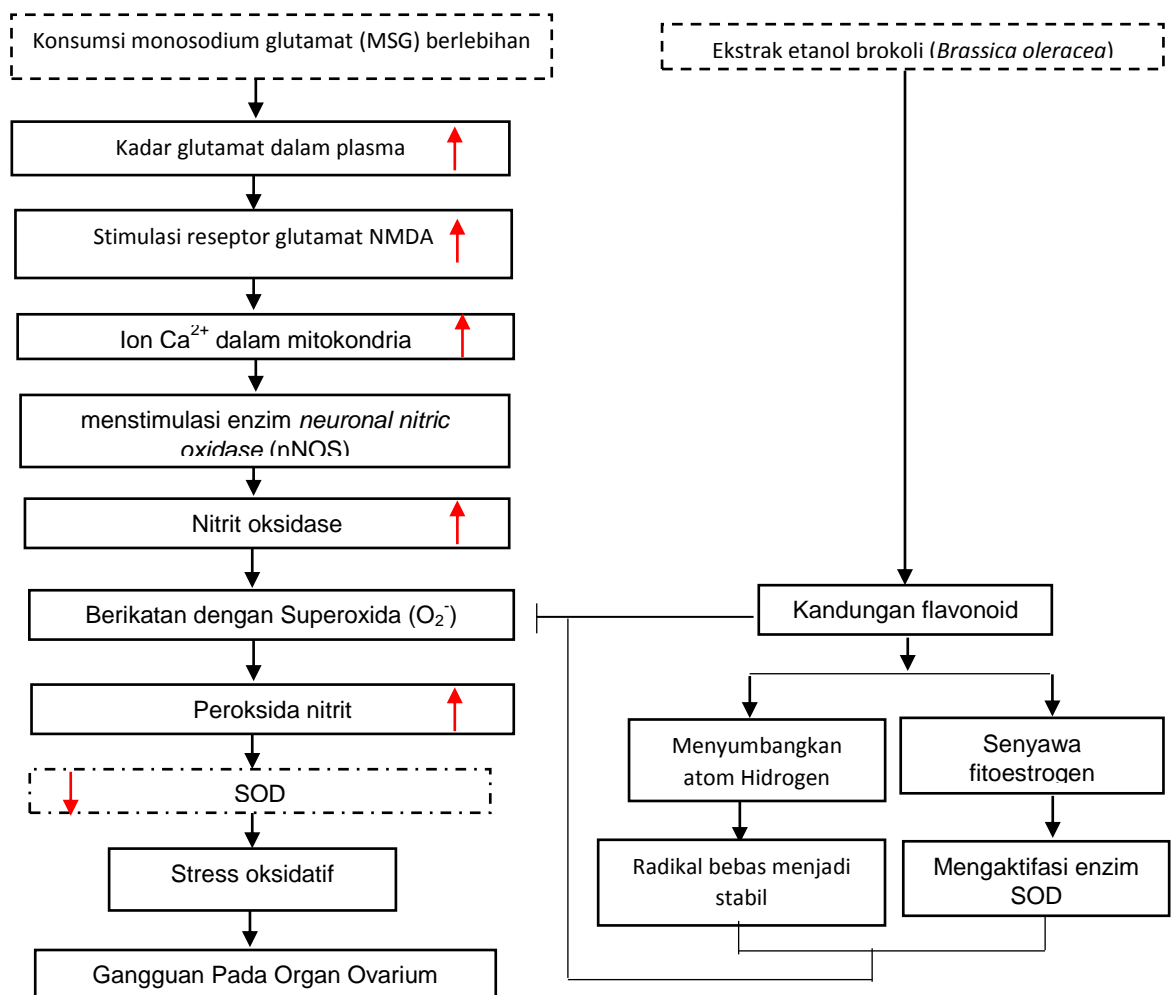
Gambar 2.4 Gambaran Hasil Swab Vagina Siklus Estrus Tikus Putih (Prihatin dkk, 2013)

Gambar A diestrus, B proestrus, C proestrus peralihan ke estrus, D estrus, E metestrus peralihan ke diestrus.

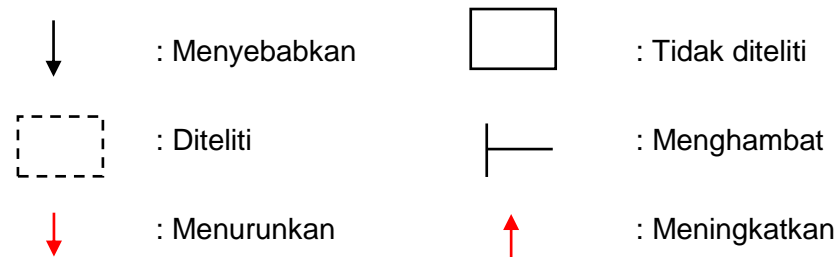
BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konsep

Keterangan:**Deskripsi Kerangka Konsep**

Konsumsi monosodium glutamat (MSG) dapat meningkatkan kadar glutamat dalam plasma dan akan kembali dalam kadar normal dalam 1-2 jam, namun jika konsumsi MSG secara terus menerus yang melebihi kapasitas metabolisme tubuh akan menyebabkan peningkatan kadar glutamat yang tidak terkendali (Smriga, 2016; Ermayanti, dkk, 2016). Peningkatan kadar glutamat dalam plasma akan berdampak buruk yaitu, dapat menyebabkan stimulasi yang berlebihan pada reseptor glutamat khususnya reseptor *N-methyl-D-aspartate* (NMDA). Aktivasi reseptor NMDA dapat menyebabkan terjadinya peningkatan ion kalsium (Ca^{2+}) (Razali, 2015). Peningkatan ion kalsium akan terakumulasi dalam sitoplasma dan mitokondria yang dapat menstimulasi enzim *neuronal nitric oxide* (nNOS) yang akan membentuk *Nitrite oxidase* (NO^-). NO^- dalam jumlah normal tidak akan mengganggu fungsi tubuh, namun jika kadarnya berlebihan akan berkompetisi dengan SOD untuk mengikat *Superoxide* (O_2^-). NO^- yang berikatan dengan O_2^- akan membenruk

peroksida nitrit (ONOO^-) yang merupakan radikal bebas (Yueniwati, 2015).

Radikal bebas memiliki kapasitas untuk bereaksi dengan molekul apapun sehingga dapat menyebabkan kerusakan komponen selular. Sebagai pertahanan, tubuh memiliki mekanisme untuk menangkal radikal bebas dengan menggunakan antioksidan endogen, yaitu antioksidan yang dibentuk dalam tubuh salah satunya adalah *Superoksida dismutase* (SOD) (Young and Woodside, 2001). SOD merupakan pertahanan utama tubuh dalam menangkal radikal bebas dan meminimalkan kerusakan jaringan akibat radikal bebas (Nurhayati dkk, 2011). Namun, jika kadar radikal bebas terus meningkat jumlah SOD menjadi kurang efektif dalam menangkal radikal bebas (Werdhasari, 2014). Akibatnya terjadi kenaikan jumlah radikal bebas dalam tubuh, kenaikan ini dapat menyebabkan stress oksidatif dimana kadar antioksidan lebih rendah daripada kadar radikal bebas. Keadaan ini merupakan keadaan yang membahayakan, sebab stress oksidatif dapat menyebabkan kerusakan sel bahkan organ (Birben et al, 2012).

Gangguan pada sistem reproduksi yang disebabkan karena radikal bebas adalah gangguan pada organ ovarium. Radikal bebas akan menyebabkan fungsi sel-sel dalam ovarium terganggu, bahkan akan mengganggu produksi folikel dalam ovarium. Hal ini menyebabkan terganggunya pula fertilitas, karena ovarium merupakan organ yang berfungsi sebagai penghasil ovum (Septadina, 2011). Oleh karena itu, tubuh membutuhkan antioksidan eksogen yang digunakan untuk menetralkan peningkatan radikal bebas dalam tubuh.

Brokoli merupakan salah satu jenis sayuran yang banyak mengandung antioksidan yaitu kandungan vitamin C, vitamin E, karetonoid, dan flavonoid dalam jumlah yang tinggi (Ramayulis, 2015). Senyawa flavonoid yang terkandung dalam brokoli dapat menjadi antioksidan yang kuat. Senyawa flavonoid akan menyumbangkan satu atom hidrogennya untuk menstabilkan radikal bebas. Pelepasan atom hidrogen ini akan menjadikan radikal bebas lebih stabil dan tidak kembali merusak molekul tubuh (Banjarnahor and Nina, 2014). Selain itu, senyawa flavonoid juga merupakan senyawa fitoestrogen, yaitu senyawa yang struktur dan fungsinya mirip dengan estrogen. Salah satu fungsi estrogen dapat menjadi antioksidan dengan menstimulasi Mn-SOD atau dapat menstimulasi terbentuknya enzim antioksidan (Strehlow et al, 2003).

3.2 Hipotesis Penelitian

Pemberian ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) dapat meningkatkan kadar *Superoxide dismutase* (SOD) ovarium tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar yang dipapar Monosodium glutamat (MSG)

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian akan dilaksanakan dengan menggunakan metode penelitian *True Eksperimental Laboratorium* pada hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina dengan menggunakan desain penelitian *Randomized Post Test Only Control Group Design*.

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Pemilihan Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah 30 tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina yang diambil dari Laboratorium Parasitologi FKUB. Sampel akan dipilih secara random dengan cara mengambil tikus secara acak, sehingga setiap tikus memiliki kesempatan yang sama

untuk menjadi sampel. Kriteria inklusi dan kriteria esklsi sebagai berikut:

Kriteria inklusi :

1. Tikus putih betina spesies *Rattus norvegicus*
2. Berat badan 150 - 200 gram
3. Sehat (gerak aktif, mata jernih, berbulu putih, tidak cacat)
4. Berumur 2 – 3 bulan

Adapun kriteria eksklusi

1. Tikus terdapat kelainan atau cacat
2. Tikus yang sakit atau mati saat randomisasi, selama masa adaptasi atau sebelum dilakukan perlakuan dan selama proses penelitian berlangsung

4.2.2 Jumlah Sampel

Perhitungan jumlah sampel (r) pada setiap perlakuan (t) berdasarkan rumus Federer (1983) sebagai berikut :

$(r-1) (t-1) \geq 15$

Dimana r merupakan jumlah replikasi atau jumlah sampel setiap kelompok dan t merupakan jumlah kelompok perlakuan. Dalam penelitian ini menggunakan 5 kelompok perlakuan, sehingga perhitungan sampel menjadi:

$$(r-1) (t-1) \geq 15$$

$$(r-1) (5-1) \geq 15$$

$$(r-1) 4 \geq 15$$

$$4r - 4 \geq 15$$

$$4r \geq 19$$

$$r \geq 5$$

Jadi, sampel yang digunakan setiap kelompok sebanyak 5 tikus dan terdapat 5 kelompok sehingga penelitian ini menggunakan 25 ekor tikus.

Dalam penelitian eksperimental dapat terjadi *drop out* pada hewan coba sebelum penelitian selesai dilakukan. Sehingga, diperlukan perhitungan kembali untuk menambahkan sampel cadangan.

Berdasarkan rumus sampel terkoreksi kemungkinan adanya sampel *drop out* sebanyak 10% (0,1), maka jumlah sampel yang direncanakan menurut

$$N = n / (1-f)$$

Keterangan:

N = Besar sampel koreksi

n = Besar sampel awal

f = Perkiraan proporsi *drop out* 10%

Sehingga, perhitungannya menjadi:

$$N = n / (1-f)$$

$$N = 5 / (1-0,1)$$

$$N = 5 / 0,9$$

$$N = 6$$

Jadi, sampel yang digunakan setiap kelompok sebanyak 6 ekor. Oleh karena itu, dalam penelitian ini menggunakan 30 ekor tikus yang terbagi dalam 5 kelompok.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Independent

Dosis ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) dan dosis monosodium glutamat (MSG).

4.3.2 Variabel Dependent

Kadar *Superoxide dismutase* (SOD) ovarium tikus putih (*Rattus norvegicus*).

4.4 Waktu dan Tempat Penelitian

4.4.1 Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Parasitologi dan Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang.

4.4.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan selama 35 hari dimana 7 hari adaptasi, 28 hari perlakuan.

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1 Alat dan Bahan Pemeliharaan Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

4.5.1.1 Alat Pemeliharaan Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

- Bak plastik dengan tutup dari kawat berukuran 20cm x 30cm x 40cm
- Botol minum
- Baskom plastik

4.5.1.2 Bahan Pemeliharaan Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

- Air mineral
- Pakan ayam BR 1
- Tepung
- Sekam

4.5.2 Alat dan Bahan Pembuatan Ekstrak Brokoli (*Brassica oleracea*)

4.5.2.1 Alat Pembuatan Ekstrak Brokoli (*Brassica oleracea*)

- Penyaring
- Rotary evaporator

- Vakum drying
- Pipet
- Gelas ukur
- Tabung reaksi
- Neraca analitik
- Mesh
- Overheat stirrer

4.5.2.2 Bahan Pembuatan Ekstrak Brokoli (*Brassica oleracea*)

- Serbuk Brokoli (*Brassica oleracea*)
- Etanol 70%

4.5.3 Alat dan Bahan Pembuatan Dosis Monosodium Glutamat (MSG)

4.5.3.1 Alat Pembuatan Dosis Monosodium Glutamat (MSG)

- Spatula Kimia
- Timbangan analitik
- Alumunium Foil
- Tabung ukur
- Botol plastik

4.5.3.2 Bahan Pembuatan Dosis Monosodium Glutamat (MSG)

- *L-glutamic acid monosodium salt hydrate 99%*, merk TCI
- Aquades

4.5.4 Alat dan Bahan Pembuatan Dosis Ekstrak Etanol Brokoli (*Brassica oleracea*)

4.5.4.1 Alat Pembuatan Dosis Ekstrak Etanol Brokoli (*Brassica oleracea*)

- Timbangan analitik
- Spatula Kimia
- Tabung Ukur
- Botol Plastik
- Mortar

4.5.4.2 Bahan Pembuatan Dosis Ekstrak Etanol Brokoli (*Brassica oleracea*)

- Ekstrak Etanol Brokoli
- Aquades
- Garam Fisiologis

4.5.5 Alat dan Bahan Pemberian Ekstrak Etanol Brokoli dan Monosodium Glutamat (MSG)

4.5.5.1 Alat Pemberian Ekstrak Etanol Brokoli dan Monosodium Glutamat (MSG)

- Spluit 10 cc
- Sonde

4.5.5.2 Bahan Pemberian Ekstrak Etanol Brokoli dan Monosodium Glutamat (MSG)

- Larutan ekstrak etanol brokoli
- Larutan monosodium glutamat

4.5.6 Alat dan Bahan Swab Vagina Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

4.5.6.1 Alat Swab Vagina Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

- *Objec glass*
- Mikroskop
- *Cuttoon bud*

- Tatakan pewarnaan
- Tabung sentrifugasi
- Pipet tetes

4.5.6.2 Bahan Swab Vagina Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

- Larutan *giemsa*
- Metanol absolut
- Aquades

4.5.7 Alat dan Bahan Terminasi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

4.5.7.1 Alat Terminasi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

- Spluit 1cc
- Pinset
- Pemegang jaringan
- Gunting
- Jarum pentul
- Papan pembedahan

4.5.7.2 Bahan Terminasi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

- Ketamin 100 mg/10ml

4.5.8 Alat dan Bahan Pembuatan Preparat Ovarium Tikus Putih

(*Rattus norvegicus*)

4.5.8.1 Alat Pembuatan Preparat Ovarium Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

- Plastik klip
- Box es

4.5.8.2 Bahan Pembuatan Preparat Ovarium Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

- PBS

4.5.9 Alat dan Bahan Pengukuran Kadar SOD Ovarium Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

4.5.9.1 Alat Pengukuran Kadar SOD Ovarium Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

- Pipet
- Timbangan sarkorium
- Centrifugasi
- Spektofotometer
- Vortex
- Mikropipet
- Gunting
- Penjepit
- Inkubator
- Tabung reaksi
- Mortal dan stamper

4.5.9.2 Bahan Pengukuran Kadar SOD Ovarium Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

- Xantin
- Xantin oksidase
- PBS (*Phosfas buffer saline*)
- EDTA
- NBT

- Buffer fosfat
- SOD

No	Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Skala Ukur
1.	Monosodium Glutamat (MSG)	Monosodium glutamat merupakan bahan penyedap makanan yang berbentuk seperti kristal putih dari proses fermentasi (Praja, 2015). MSG yang digunakan adalah <i>L-glutamic acid monosodium salt hydate 99%</i> , merk TCI.	Timbangan analitik	Rasio
2.	Ekstrak Brokoli (<i>Brassica oleracea</i>)	Brokoli (<i>Brassica oleracea</i>) diperoleh dari pertanian di Batu, yang akan di proses menjadi simplisia dan serbuk di Balai Tanaman Obat Materia Medika, Batu. Selanjutnya akan diekstrak dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%	Timbangan analitik	Ordinal
3.	<i>Superoxide Dismutase</i> (SOD)	<i>Superoxide dismutase</i> merupakan antioksidan endogen yang berasal dari dalam tubuh berfungsi untuk melindungi sel-sel tubuh dari radikal bebas (Winarsi,2007). Pengukuran kadar SOD menggunakan metode spektrofotometri.	Spektrofotome ter	Rasio

4.6 Definisi Operasional

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Pembuatan Ekstrak Brokoli (*Brassica oleracea*)

Simplisia brokoli (*Brassica oleracea*) yang telah menjadi serbuk diperoleh dari Balai Tanaman Obat Materia Medika, Batu. Serbuk brokoli yang digunakan sebanyak 100 gram kemudian di ekstraksi dengan metode maserasi. Serbuk brokoli direndam dengan 900 ml larutan etanol 70%, setelah itu dikocok selama kurang lebih 30 menit dan direndam selama 24 jam yang terlindung dari sinar cahaya sampai mengendap. Kemudian diambil lapisan atas yang merupakan campuran dari pelarut dan zat aktif. Masukkan ke Labu evaporasi dan dipasang pada evaporator. Water bath diisi air sampai penuh dengan suhu sampai 90° atau sesuai dengan titik didih pelarut. Semua rangkaian alat dipasang dan disambungkan dengan aliran listrik. Biarkan pelarut terpisah dengan zat aktif. Aliran pelarut dibiarkan sampai berhenti menetes pada labu penampung kurang lebih 1,5 sampai 2 jam dengan hasil kurang lebih 900 ml. Setelah itu didapatkan hasil ekstraksi dan dimasukkan dalam botol plastik yang akan disimpan di freezer.

4.7.2 Pembuatan Larutan Ekstrak Etanol Brokoli (*Brassica oleracea*)

Dosis brokoli yang digunakan ada 3 dosis, yaitu 500 mg/kgBB, 1000 mg/kgBB, dan 2000 mg/kgBB. Pembuatan konsentrasi ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) menggunakan rumus sebagai berikut:

Dosis untuk tikus dengan berat badan 180 gr:

- Dosis I : 500 mg/kgBB = 0,09 g/180grBB
- Dosis II : 1000 mg/kgBB = 0,18 g/180grBB
- Dosis III : 2000 mg/kgBB = 0,36 g/180grBB

1. Dosis 1 yaitu 0,09 gr/180grBB

- Volume larutan stok untuk 6 tikus selama 7 hari

$$V. \text{ Stok} = \text{Volume Sondel (ml)} \times \text{jumlah tikus} \times \text{lama (hari)}$$

$$= 1 \times 6 \times 7$$

$$= 42 \text{ ml}$$

- Konsentrasi stok untuk 6 tikus selama 7 hari

$$\text{konsentrasi stok} = \frac{\text{Dosis (gr)}}{\text{volume sonde (ml)}} : \frac{x}{\text{volume stok (ml)}}$$

$$= \frac{0,09 \text{ gr}}{1 \text{ ml}} : \frac{x}{42 \text{ ml}}$$

$$= 3,78 \text{ gr}$$

Jadi, 3,78 gram ekstrak akan dilarutkan dalam 42 ml aquades yang digunakan untuk larutan stok dosis I selama 7 hari dan setiap tikus akan diberikan 1 cc dengan konsentrasi 0,09 gr.

2. Dosis 2 yaitu 0,18 gr/180gBB

- Volume larutan stok untuk 6 tikus selama 7 hari

$$V. \text{ Stok} = \text{Volume Sondel (ml)} \times \text{jumlah tikus} \times \text{lama (hari)}$$

$$= 1 \times 6 \times 7$$

$$= 42 \text{ ml}$$

- Konsentrasi larutan stok untuk 6 tikus selama 7 hari

$$\text{konsentrasi stok} = \frac{\text{Dosis (gr)}}{\text{volume sonde (ml)}} : \frac{x}{\text{volume stok (ml)}}$$

$$= \frac{0,18 \text{ gr}}{1 \text{ ml}} : \frac{x}{42 \text{ ml}}$$

$$= 7,56 \text{ gr}$$

Jadi, 7,56 gram ekstrak akan dilarutkan dalam 42 ml yang digunakan untuk larutan stok dosis II selama 7 hari dan setiap tikus akan diberikan 1 cc dengan konsentrasi 0,18 gr.

3. Dosis 3 yaitu 0,36 gr/180gBB

- Volume larutan stok untuk 6 tikus selama 7 hari

$$\begin{aligned} V. \text{ Stok} &= \text{Volume Sondel (ml)} \times \text{jumlah tikus} \times \text{lama (hari)} \\ &= 1 \times 6 \times 7 \\ &= 42 \text{ ml} \end{aligned}$$

- Konsentrasi larutan stok untuk 6tikus selama 7hari

$$\begin{aligned} \text{konsentrasi stok} &= \frac{\text{Dosis (gr)}}{\text{volume sonde (ml)}} : \frac{x}{\text{volume stok (ml)}} \\ &= \frac{0,36 \text{ gr}}{1 \text{ ml}} : \frac{x}{42 \text{ ml}} \\ &= 15,12 \text{ gr} \end{aligned}$$

Jadi, 15,12 gram ekstrak akan dilarutkan dalam 42 ml yang digunakan untuk larutan stok dosis III selama 7 hari dan setiap tikus akan diberikan 1 cc dengan konsentrasi 0,36 gr.

4.7.3 Pembuatan Larutan Monosodium Glutamat (MSG)

Monosodium yang digunakan adalah *L-glutamic acid monosodium salt hydrate* 99%, merek TCI dengan dosis 0,7 mg/gBB. Dosis yang digunakan mengacu pada penelitian Megawati (2005), menyatakan bahwa pada dosis 0,7 mg/gBB dapat mempengaruhi sistem reproduksi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*). Selanjutnya, membuat larutan monosodium glutamat dengan konsentrasi sesuai dosis, yaitu dosis 0,7 mg/gBB.

Pembuatan konsentrasi monosodium glutamat menggunakan rumus sebagai berikut:

Dosis untuk tikus dengan berat badan 180 gr:

- Dosis I : 0,7 mg/gBB = 0,126 g/180gBB
- Volume larutan stok untuk 24 tikus selama 7 hari

$$\begin{aligned} V. \text{ Stok} &= \text{Volume Sondel (ml)} \times \text{jumlah tikus} \times \text{lama (hari)} \\ &= 1 \times 24 \times 7 \\ &= 168 \text{ ml} \end{aligned}$$

- Konsentrasi larutan stok untuk 24 tikus selama 7 hari

$$\begin{aligned} \text{konsentrasi stok} &= \frac{\text{Dosis (gr)}}{\text{volume sonde (ml)}} : \frac{x}{\text{volume stok (ml)}} \\ &= \frac{0,126 \text{ gr}}{1 \text{ ml}} : \frac{x}{168 \text{ ml}} \\ &= 21,168 \text{ gr} \end{aligned}$$

Jadi, 21,168 gram ekstrak akan dilarutkan dalam 168 ml yang digunakan untuk larutan stok selama 7 hari dan setiap tikus akan diberikan 1 cc dengan konsentrasi 0,126 gr.

4.7.4 Pembagian Kelompok Hewan Coba

Jumlah hewan coba pada penelitian ini adalah 30 ekor tikus putih betina, yang dibagi menjadi 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan dan setiap kelompok terdiri dari 6 ekor tikus:

- K (N) Kelompok kontrol negatif :

Tidak dipapar monosodium glutamat (MSG) dan tanpa ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*)

- K (P) kelompok kontrol positif :

Pemaparan monosodium glutamat (MSG) 0,7 mg/gBB dan tanpa pemaparan ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*)

- P1 kelompok perlakuan 1 :
Pemaparan monosodium glutamat (MSG) 0,7 mg/gBB dengan ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) 500 mg/kgBB
- P2 kelompok perlakuan 2 :
Pemaparan monosodium glutamat (MSG) 0,7 mg/gBB dengan ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) 1000 mg/kgBB
- P3 kelompok perlakuan 3 :
Pemaparan monosodium glutamat (MSG) 0,7 mg/gBB dengan ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) 2000 mg/kgBB

4.7.5 Adaptasi Hewan Coba

1. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina di dalam kandang selama 1 minggu untuk melakukan penyesuaian diri dengan lingkungan laboratorium. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina diberi makan standar berupa palet ayam BR 1 yang dicampur dengan tepung dan di beri minum air mineral.
2. Tikus ditempatkan pada kandang yang tampak dari luar (ember plastik) dengan ukuran 20cm x 30cm x 40cm yang dialasi dengan sekam padi setebal 0,5 -1 cm. Sekam dibersihkan atau diganti setiap seminggu 2 kali. Kandang ditutup dengan kawat yang berjaring.

4.7.6 Pemberian Larutan Monosodium Glutamat dan Ekstrak Etanol Brokoli (*Brassica oleracea*)

Pemberian larutan monosodium glutamat dan ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) sesuai dengan dosis perlakuan yang telah ditentukan dan akan diberikan selama 28 hari secara per oral dengan menggunakan sonde sampai dengan lambung, dilakukan setelah proses adaptasi hewan coba.

4.7.7 Swab Vagina Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Proses swab vagina dilakukan pada hari terakhir setelah diberikan perlakuan. Swab vagina dilakukan untuk mengetahui fase proestrus tikus yang dapat dilihat melalui gambaran jaringan epitel vagina tikus.

Langkah-langkah pengambilan dan pewarnaan preparat swab vagina adalah:

1. Basahi *cotton bud* dengan larutan aquades kemudian masukan ke dalam vagina tikus dengan sudut 45° . Setelah itu, lakukan swab vagina sebanyak 1-2 kali.
2. Oleskan hasil swab vagina pada *object glass*, tunggu hingga kering.
3. Masukan preparat apusan yang sudah kering ke dalam larutan metanol absolut selama 3 menit untuk difiksasi dan tunggu hingga kering.
4. Selanjutnya preparat ditetesi menggunakan larutan *giemsa* selama 15 menit, angkat dan bilas dengan air mengalir, lalu

keringkan. Setelah itu, amati morfologi sel epitel vagina di bawah mikroskop dengan pembesaran 400x.

4.7.8 Terminasi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Dalam penelitian ini, pembedahan dilakukan pada hari ke 29 perlakuan pada tikus yang sedang dalam fase pro estrus dengan langkah-langkah sebagai berikut:

1. Siapkan alat untuk pembedahan minor: pinset, pemegang jaringan, gunting, ketamin 10 mg/KgBB, spluit 1 cc, jarum pentul, tempat pembedahan
2. Tikus diterminasi dengan cara menyuntikan ketamin 10 mg/KgBB dipaha tikus kemudian tunggu beberapa menit hingga tikus tidak bergerak. Tikus yang sudah pingsan diletakkan diatas alas papan dengan perut menghadap ke atas dengan menggunakan jarum pentul yang ditancapkan pada keempat telapak kaki. Dinding thorax dibuka dengan menggunakan pinset dan gunting secara hati-hati, dengan sayatan pada didaerah perut, setelah ambil ovarium kiri.
3. Bangkai tikus yang tersisa dan tidak digunakan lagi dikubur dengan aman sehingga tidak menimbulkan pencemaran lingkungan.

4.7.9 Pembuatan Preparat Ovarium Tikus Putih (*Rattus nobvergicus*)

Preparat ovarium dibuat setelah dilakukan pembedahan. Ovarium kiri yang telah diambil, dicuci dengan menggunakan PBS.

Setelah itu, organ dimasukkan ke dalam plastik klip dan simpan dalam freezer.

4.7.10 Pengukuran Kadar Superoxide Dismutase (SOD) Ovarium Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) dengan Metode Spektrofotometri

1. Cuci jaringan ovarium kiri dengan menggunakan PBS (*phosphate buffered saline*) dengan pH 7,4 untuk menghilangkan darah
2. Timbang ovarium 100 mg untuk masing-masing kelompok dan masukan ke dalam tabung.
3. Homogenasi dengan bufer fosfat dan protease sebanyak 2cc dengan cara dicacah dan digerus memakai mortar.
4. Sentrifuse dingin 4000 rpm 4°C selama 15 menit
5. Ambil supernatant sampel 200 µl, masukan dalam tabung reaksi lalu tambahkan reagen EDTA 100 µl, NBT, Xantine 100 µl, Xantine oksidase 100 µl, dan buffer fosfat.
6. Kemudian inkubasi pada suhu 37°C selama kurang lebih 30 menit
7. Sentrifuse 10.000 rpm selama 10 menit pada suhu ruang
8. Tambahkan PBS hingga menjadi 3 cc dan baca absorpsi dengan spektrofotometer dengan λ 580 nm.

4.8 Analisis Data

1. Uji Normalitas

Uji normalitas data digunakan untuk mengetahui sebaran data normal. Uji normalitas yang digunakan adalah uji Shapiro-Wilk, bila $p > 0,05$ maka disimpulkan data terdistribusi normal. Bila dihasilkan data terdistribusi normal maka dilanjutkan dengan uji homogenitas (Dahlan, 2011).

2. Uji Homogenitas

Uji homogenitas pada penelitian ini menggunakan uji Leuvene's. Pembacaan hasil dengan nilai $p > 0,05$ maka data homogen (Dahlan, 2011).

Jika uji normalitas data dan uji homogenitas terpenuhi, maka dilanjutkan uji hipotesa dengan uji parametrik One Way ANOVA. Namun, jika uji homogenitas dan uji normalitas tidak terpenuhi, maka menggunakan Uji Kruskal Walls.

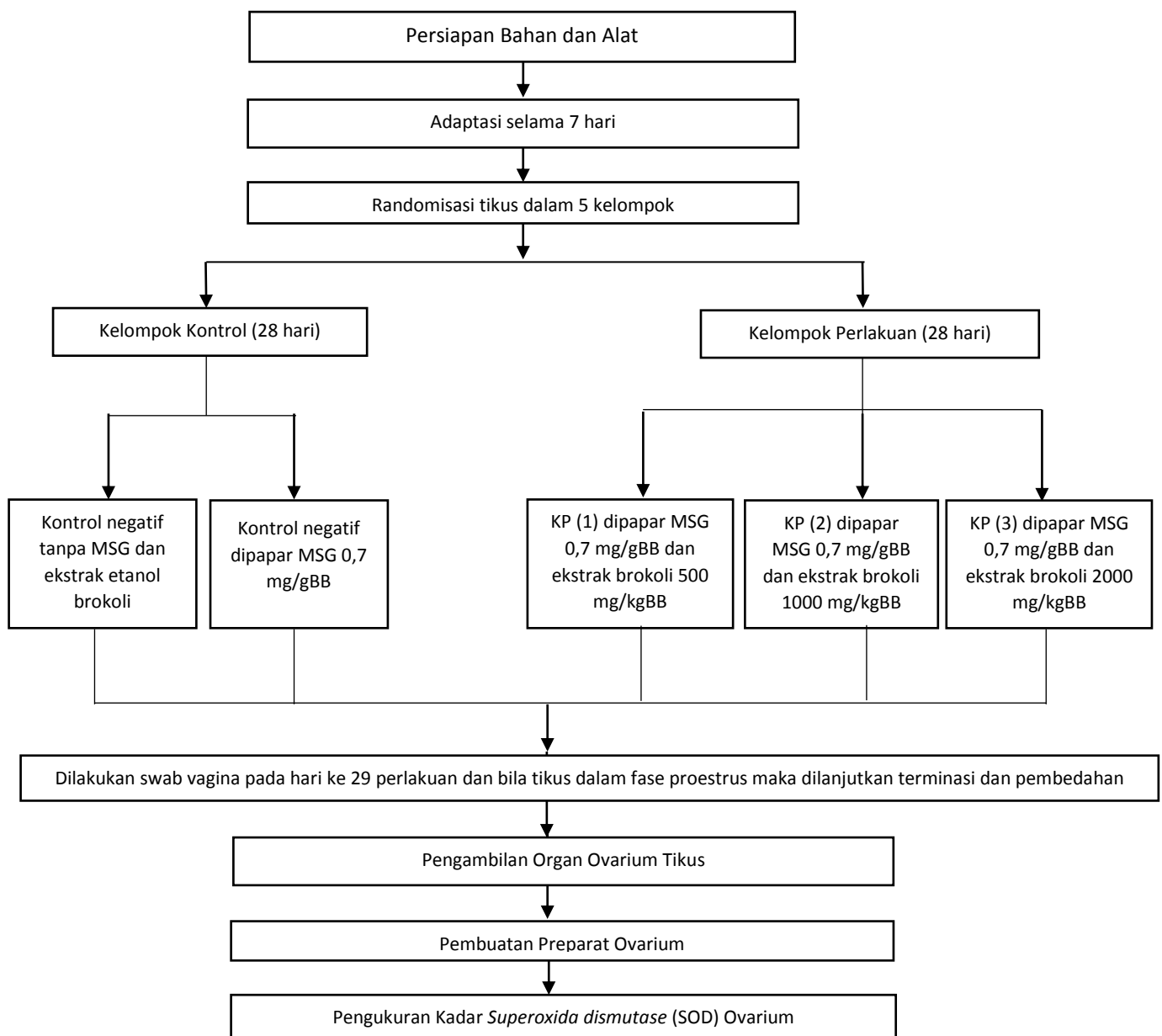
3. One Way ANOVA

Uji hipotesa menggunakan One Way ANOVA untuk mengukur rerata variabel terukur antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. ANOVA memiliki nilai signifikansi 0,05 ($p < 0,05$). Jika pada uji One Way ANOVA menghasilkan data yang terdapat perbedaan yang bermakna (signifikan) atau H_0 ditolak dan H_1 diterima maka dapat disimpulkan bahwa ada pengaruh pemberian ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) terhadap peningkatan kadar superoksida dismutase (SOD) tikus yang dipapar MSG. selanjutnya, dilanjutkan dengan uji Post Hoc untuk mencari kelompok mana saja yang memiliki rata-rata kenaikan SOD secara signifikan tiap kelompok. Uji Post Hoc memiliki nilai signifikansi 0,05 ($p < 0,05$) (Sarwono, 2018).

4. Uji Korelasi *Spearman rank*

Uji korelasi pada penelitian ini menggunakan uji korelasi non parametrik, yaitu Uji *Spearman rank*. Uji ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui hubungan antara besarnya dosis ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) dengan kadar Superoxide dismutase (SOD) (Sarwono, 2018).

4.9 Alur Penelitian



Gambar 4.1 Alur Penelitian

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang pada bulan Februari sampai dengan bulan April 2019. Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebanyak 30 ekor tikus yang dibagi menjadi 5 kelompok dimana setiap kelompok terdiri dari 6 ekor tikus, yaitu kelompok kontrol negatif (K-) adalah kelompok tikus yang tidak mendapatkan paparan ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) dan monosodium glutamat (MSG), kelompok kontrol positif (K+) adalah kelompok tikus yang hanya mendapatkan paparan monosodium glutamat (MSG) dengan dosis 0,7 mg/gBB tanpa ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*), kelompok perlakuan 1 (P1) adalah kelompok tikus yang mendapatkan paparan ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) dengan dosis 500 mg/KgBB dan monosodium glutamat (MSG) dengan dosis 0,7 mg/gBB, kelompok perlakuan 2 (P2) adalah kelompok tikus yang mendapatkan paparan ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) dengan dosis 1000 mg/KgBB

dan monosodium glutamat (MSG) dengan dosis 0,7 mg/gBB dan kelompok perlakuan 3 (P3) adalah kelompok tikus yang mendapatkan paparan ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) dengan dosis 2000 mg/KgBB dan monosodium glutamat (MSG) dengan dosis 0,7 mg/gBB.

Penelitian ini menguji mengenai pengaruh pemberian ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) terhadap kadar *Superoxide dismutase* (SOD) ovarium tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar yang dipapar monosodium glutamat (MSG) selama 35 hari (1 minggu adaptasi hewan coba dan 28 hari perlakuan). Pemberian ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) dan monosodium glutamat (MSG) diberikan sesuai dosis set 53 < 1 cc pada masing-masing dosis. Pada hari ke 29 setelah perlakuan dilakukan swab vagina tikus, jika tikus dalam fase pro estrus maka dilanjutkan dengan pembedahan yang bertujuan untuk mengambil sampel yaitu ovarium kiri. Setelah itu, dilakukan perhitungan kadar *Superoxida dismutase* (SOD) ovarium. Untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan rata-rata kadar SOD ovarium yang bermakna, dilakukan uji One Way ANOVA. Terdapat 2 asumsi yang mendasari dilakukan uji *One Way* ANOVA, yaitu sebaran data normal (uji normalitas) dan varian data sama (uji homogenitas). Uji normalitas data menggunakan *Shapiro-Wilk test*. Uji normalitas dikatakan terpenuhi jika *p-value* > 0,05. Sedangkan pengujian homogenitas ragam dikatakan terpenuhi jika *p-value* > 0,05. Hasil pengujian asumsi normalitas dan homogenitas ragam menggunakan bantuan software program SPSS 23 dapat dilihat pada Tabel 5.1 dan 5.2.

variabel	p value	Distribusi
----------	---------	------------

Tabel 5.1	SOD	0.155	Normal
-----------	-----	-------	--------

H

asil Uji Normalitas Kadar *Superoxida Dismutase* Ovarium Tikus Putih Pada Berbagai Perlakuan

Jika $p\text{-value} < 0,05$ berarti data tidak berdistribusi normal dan jika $p\text{-value} > 0,05$ maka data terdistribusi normal.

Berdasarkan tabel 5.1 mengenai hasil uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* didapatkan nilai $p > 0,05$ yang artinya sebaran data normal. Selanjutnya uji homogenitas antar kelompok.

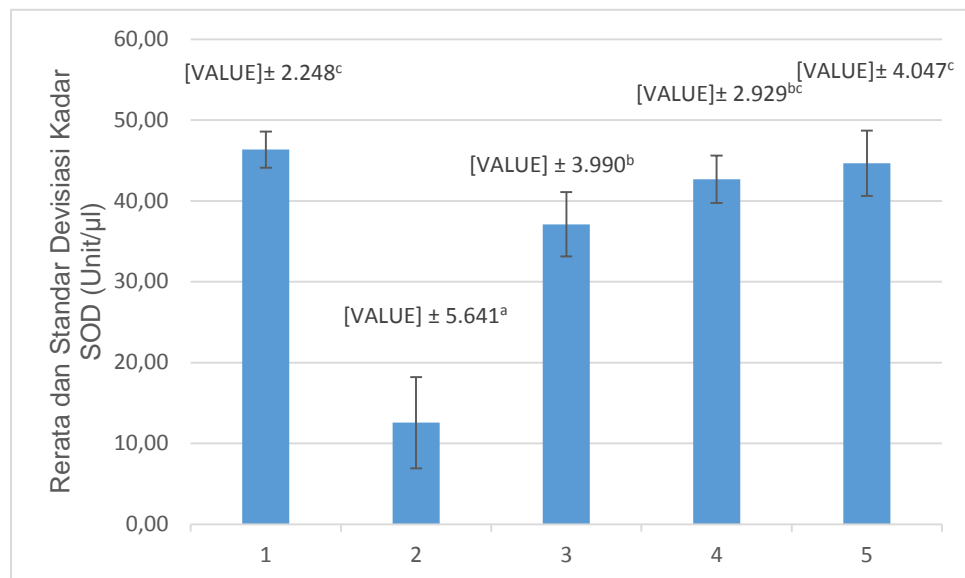
Tabel 5.2 Hasil Uji Homogenitas Kadar *Superoxida Dismutase* Ovarium Tikus Putih Pada Berbagai Perlakuan

J	variabel	p value	Homogenitas
i			
k	SOD	0.206	Homogen
a			

$p\text{-value} < 0,05$ berarti data tidak homogen dan jika $p\text{-value} > 0,05$ maka data homogen.

Berdasarkan tabel 5.2 mengenai hasil uji homogenitas menggunakan uji Leuvene's didapatkan nilai $p > 0,05$ yang artinya data homogen. Jika semua data telah memenuhi syarat uji parametrik, selanjutnya data dianalisis lebih lanjut dengan uji statistika parametrik guna membuktikan hipotesis penelitian yang diajukan. Proses pengujian pengaruh ekstrak etanol brokoli terhadap kadar SOD ovarium dilakukan dengan menggunakan uji *One-way ANOVA*. Rerata kadar

SOD dan standar deviasi kadar SOD ovarium pada masing-masing kelompok dapat dilihat dalam gambar 5.1.



Gambar 5.1 Grafik rerata dan Standar Deviasi Kadar SOD Ovarium Pada Kelompok Kontrol dan Perlakuan.

Pada mean \pm standart deviation memuat huruf yang berbeda maka ada perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) dan jika memuat huruf yang sama berarti tidak ada perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$).

Berdasarkan gambar 5.1 pengukuran kadar SOD pada kelompok kontrol negatif (K-) didapatkan rerata 46,35 Unit/µl. Hasil pengukuran kadar SOD pada kelompok kontrol positif (K+) didapatkan rerata 12,56 Unit/µl. Pada kelompok perlakuan 1 (P1) di dapatkan rerata 37,11 Unit/µl. Kelompok perlakuan 2 (P2) di dapatkan rerata 42,68 Unit/µl. Kelompok perlakuan 3 (P3) di dapatkan rerata 44,66 Unit/µl. Dengan demikian, kontrol positif memiliki rerata kadar SOD paling rendah. Pada tikus yang dipapar ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) dengan berbagai dosis menunjukkan rerata kadar SOD yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Hal ini menunjukkan adanya peningkatan kadar SOD pada kelompok yang dipapar ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) dengan berbagai dosis. Untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan rata-rata kadar SOD ovarium yang bermakna dilakukan pengujian menggunakan ANOVA.

Tabel 5.3 Hasil Uji ANOVA Kadar *Superoxida dismutase* Ovarium Tikus Putih (*Rattus*

variabel	p value	Sig
SOD	0,000	Sig

icus) yang Dipapar MSG

Jika $p\text{-value} < 0,05$ berarti data signifikan dan jika $p\text{-value} > 0,05$ maka data tidak signifikan.

Berdasarkan tabel 5.3 hasil analisa data didapatkan nilai $p\text{-value}$ sebesar 0,000. Dari uji *One-Way* ANOVA didapatkan hasil $p < 0,05$ yang dapat diartikan bahwa terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) terhadap peningkatan kadar superoksida dismutase (SOD) tikus yang dipapar MSG. Bila hasil ANOVA signifikan maka dilanjutkan dengan uji Post Hoc test untuk membandingkan antar kelompok mana yang memiliki perbedaan signifikan. Berikut kesimpulan hasil Uji Post Hoc terhadap kadar SOD.

Tabel 5.4 Hasil Uji Post Hoc Kadar *Superoxida Dismutase* Ovarium Tikus Putih Pada

Perbandingan	p value
Kontrol negatif	Kontrol Positif
	P1
	P2
	P3
Kontrol positif	P1
	P2
	P3
P1	P2
	P3
P2	P3

Berdasarkan hasil uji *Post Hoc* didapatkan hasil, apabila kelompok kontrol negatif (K-) dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (K+) terlihat terdapat perbedaan kadar SOD ovarium yang bermakna ($p=0,000$) berarti bahwa MSG

dapat menurunkan kadar SOD ovarium. Selanjutnya, kelompok perlakuan 1 (P1) jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (K+) terjadi kenaikan kadar SOD secara signifikan ($p=0,000$) dan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (K-) maka terjadi penurunan kadar SOD secara bermakna ($p=0,004$). Kelompok perlakuan 2 (P2) jika dibandingkan antara kelompok kontrol positif (K+) terjadi kenaikan kadar SOD secara bermakna ($p=0,000$) dan jika kelompok kontrol negatif (K-) terjadi penurunan kadar SOD secara tidak bermakna ($p=0,506$). Kelompok perlakuan 3 (P3) jika dibandingkan antara kelompok kontrol positif (K+) terjadi kenaikan kadar SOD secara bermakna ($p=0,000$) namun jika kelompok kontrol negatif (K-) terjadi penurunan kadar SOD secara tidak bermakna ($p=0,945$). Jadi, dapat disimpulkan bahwa dosis P2 dan P3 merupakan dosis ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) dalam meningkatkan kadar *Superoxide dismutase* (SOD) ovarium tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dipapar monosodium glutamat (MSG). Untuk mengetahui kekuatan hubungan antara kenaikan dosis ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) dengan kadar SOD ovarium maka dilakukan uji korelasi *Spearman* (Lampiran 3). Berdasarkan hasil analisa data dapat disimpulkan bahwa:

1. Nilai korelasi sebesar ($r = 0,856$) artinya terdapat korelasi yang kuat antara pemberian ekstrak etanol brokoli terhadap peningkatan kadar SOD
2. Arah korelasi positif, yaitu semakin tinggi dosis ekstrak etanol brokoli maka semakin tinggi kadar SOD
3. Nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$) yaitu korelasi antara pemberian ekstrak etanol brokoli dengan kadar SOD signifikan

Berdasarkan hasil uji korelasi *Spearman* dapat diketahuibahwa ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) dapat meningkatkan kadar *Superoxide dismutase* (SOD)

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan metode penelitian *True Eksperimental Laboratorium* pada hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang bertujuan untuk membuktikan pengaruh ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) terhadap peningkatan kadar SOD (*Superoxida dismutase*) ovarium tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dipapar monosodium glutamat (MSG). Berdasarkan hasil penelitian, pengukuran kadar SOD pada kelompok kontrol negatif (K-) didapatkan rerata 46.35 Unit/ μ l. Keadaan ini menggambarkan kondisi normal

pada tubuh saat tidak terpapar radikal bebas secara berlebihan. Pada dasarnya dalam kondisi normal tubuh akan membentuk radikal bebas melalui proses autoksidasi, oksidasi enzimatis dan fagositosis dalam proses respirasi (Rohmatussolihat, 2009). Radikal bebas memiliki fungsi fisiologis dan patologis dalam tubuh, salah satu fungsi fisiologis radikal bebas adalah berpengaruh pada beberapa aktifitas organ ovarium. Makrofag, leukosit dan sitokin yang merupakan sumber utama pembentukan radikal bebas, semuanya terkandung pada cairan folikel yang berfungsi pada proses pertumbuhan folikel, pematangan oosit dan biosintesis steroid dalam ovarium. Pada proses perkembangan folikel dari tahap folikel primordial ke folikel antral akan disertai dengan peningkatan fungsi metabolisme sel granulosa, terutama peningkatan aktivitas sitokrom P_{450} yang akan menghasilkan radikal bebas dalam jumlah besar selama transportasi elektron. Selain itu, proses ovulasi dikaitkan dengan reaksi peradangan akut yang membutuhkan radikal bebas sebagai modulator selama inflamasi dalam proses rupturnya folikel (Shan Wang, et al, 2017). Pada keadaan tersebut, tubuh akan meminimalisir radikal bebas dengan menghasilkan antioksidan endogen, yaitu SOD. Diantara beberapa antioksidan, SOD merupakan antioksidan yang paling baik dalam menangkal radikal bebas atau antioksidan yang paling baik dalam memperbaiki kerusakan organ yang di timbulkan oleh radikal bebas (Nurhayati, dkk, 2011). SOD bekerja sebagai katalisator reaksi dari superoksida menjadi hidrogen peroksida dan oksigen (Cristiana dkk, 2014). SOD berperan dalam pengaturan perkembangan folikel dan ovulasi. SOD akan memberikan perlindungan pada oosit terhadap kerusakan oksidatif (Fujii J, et al, 2005). Stres oksidatif akibat peningkatan radikal bebas akan mengakibatkan apoptosis sel yang merupakan mekanisme utama kematian oosit. Apoptosis pada oosit dalam jumlah

yang besar akan mengakibatkan kerusakan jaringan yang ditandai dengan terjadinya atrofi pada ovarium (Qin, 2011). Penelitian yang dilakukan Devine, et al., pada tahun 2012 mengatakan bahwa enzim antioksidan akan melindungi sel dari radikal bebas yang berperan dalam folikogenesis.

Hasil pengukuran kadar SOD pada kelompok kontrol positif (K+) didapatkan rerata 12,57 Unit/ μ l. Hasil tersebut merupakan rerata yang paling rendah dibandingkan dengan kelompok lain. Hasil ini menggambarkan bahwa paparan monosodium glutamat (MSG) mampu menghambat aktivitas SOD ovarium. Hal ini disebabkan karena monosodium glutamat dapat menghasilkan radikal bebas. Monosodium glutamat dapat menginduksi terbentuknya radikal peroksida nitrit (Farombi and Onyema, 2006). Selain itu, monosodium dapat menyebabkan penurunan kadar SOD dalam tubuh (Al-Harbi dkk, 2014). Penurunan kadar SOD menyebabkan terjadinya stres oksidatif yang berdampak pada kerusakan beberapa organ, hal ini dapat terjadi karena radikal bebas akan bereaksi dengan protein, lipid dan DNA yang menimbulkan kerusakan sel dalam organ (Manisha dkk, 2017). Salah satunya adalah organ ovarium, pemberian MSG menyebabkan kerusakan struktur histologi ovarium, yaitu terlepasnya granulosa dari membran basal, terdapat banyak celah diantara sel-sel penyusun membran granulosa serta terlepasnya sel-sel folikel dan masuk ke antrum folikuli (Megawati dkk, 2005). Selain itu, pemberian MSG juga menyebabkan terjadinya degenerasi sel pada sel granulosa, lapisan teka dan degenerasi ovum serta menyebabkan penurunan jumlah folikel sekunder dan folikel tersier (Septadina, 2014). Hal ini merupakan suatu gangguan yang fatal sebab ovarium merupakan organ yang penting dalam sistem reproduksi yang berfungsi untuk menghasilkan sel telur.

Pada saat jumlah radikal bebas melebihi jumlah antioksidan endogen maka akan menyebabkan kerusakan sel. Sehingga, memerlukan antioksidan eksogen untuk mengimbangnya, salah satu sumber antioksidan eksogen yang mampu memberikan hasil yang berbeda terhadap peningkatan kadar SOD ovarium adalah Brokoli (Khashan dkk, 2017). Brokoli mengandung flavonoid yang merupakan sumber antioksidan eksogen yang memiliki kapasitas baik sebagai antioksidan. Fungsi kerja *flavonoid* sebagai antioksidan eksogen melalui tiga mekanisme, yaitu pertama secara langsung *flavonoid* akan mencegah kerusakan sel akibat radikal bebas. Kedua, beberapa *flavonoid* mengandung *kuersetin* yang dapat meminimalisir kerusakan akibat aktivitas *nitrit oksidase sintetase*. Ketiga, *flavonoid* dapat menghambat aktifitas xantin oksidase yang merupakan jalur penting dalam kerusakan oksidatif dalam jaringan (Simanjuntak, 2012).

Pada kelompok perlakuan 1 (P1) dengan dosis monosodium glutamat 0,7 mg/gBB dan dosis ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) 500 mg/KgBB tikus di dapatkan rata-rata 37,12 Unit/ μ l. Berdasarkan Uji Post Hoc jika dibandingkan antara kelompok perlakuan 1 (P1) dengan kelompok kontrol positif (K+) terjadi kenaikan kadar SOD secara signifikan ($p=0,000$) dan jika kelompok perlakuan 1 (P1) dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (K-) maka terjadi penurunan kadar SOD secara bermakna ($p=0,004$). Hal ini menunjukkan bahwa dosis 500 mg/KgBB belum mampu mengembalikan pada kondisi yang normal, hal ini kemungkinan disebabkan karena kandungan antioksidan dari dosis yang diberikan masih belum mampu menetralsir radikal bebas secara optimal.

Kelompok perlakuan 2 (P2) dengan dosis monosodium glutamat 0,7 mg/gBB dan dosis ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) 1000 mg/KgBB tikus di dapatkan rerata 42,69 Unit/ μ l. Jika dibandingkan antara kelompok kontrol

positif (K+) terjadi kenaikan kadar SOD secara bermakna ($p=0,000$) dan jika kelompok kontrol negatif (K-) terjadi penurunan kadar SOD secara tidak bermakna ($p=0,506$). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian dosis 1000 mg/KgBB mampu meningkatkan kadar SOD ovarium tikus putih yang mendapat paparan monosodium glutamat, namun belum mampu mengembalikan dalam kondisi normal.

Kelompok perlakuan 3 (P3) dengan dosis monosodium glutamat 0,7 mg/gBB dan dosis ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) 2000 mg/KgBB tikus di dapatkan rerata 44,67 Unit/ μ l. Jika dibandingkan antara kelompok kontrol positif (K+) terjadi kenaikan kadar SOD secara bermakna ($p=0,000$) namun jika kelompok kontrol negatif (K-) terjadi penurunan kadar SOD secara tidak bermakna ($p=0,945$). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian dosis 2000 mg/KgBB mampu meningkatkan kadar SOD ovarium tikus putih yang mendapat paparan monosodium glutamat, namun belum mampu mengembalikan dalam kondisi normal.

Peningkatan kadar SOD dalam ovarium dapat terjadi dikarenakan kandungan antioksidan dalam brokoli. Brokoli memiliki manfaat sebagai antioksidan karena kandungan air, serat, protein, kalsium, zat besi, Vitamin A dan C, B16, B17, glutamin, asam amino, dan anti inflamasi (Khashan dkk, 2017). Selain itu, brokoli mengandung beberapa senyawa fenolik, salah satunya adalah flavonoid. Flavonoid merupakan sumber antioksidan yang baik dalam menangkal radikal bebas, sehingga dapat mengurangi kerusakan oksidatif yang terjadi. Kemampuan flavonoid sebagai antioksidan terkait dengan jumlah dan gugus hidroksil dalam molekul. Peningkatan jumlah gugus hidroksil akan menyebabkan aktifitas antioksidan semakin tinggi pula. Flavonoid juga telah menunjukkan

aktivitas antioksidan yang tinggi daripada aktivitas antioksidan pada vitamin dan karotenoid (Cartea dkk, 2011). Beberapa penelitian menyebutkan bahwa brokoli dapat meningkatkan serum antioksidan, yaitu GSH, SOD pada tikus yang menderita diabetes (Khashan dkk, 2017).

Hasil penelitian menunjukan bahwa adanya peningkatan kadar SOD ovarium tikus putih yang dipapar monosodium glutamat setelah pemberian ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*). Namun, peningkatan itu belum mampu mengembalikan kadar SOD dalam kondisi normal. Hal ini dikarenakan, dosis yang digunakan belum mampu mengembalikan kadar SOD ke dalam kondisi normal. Hal ini di dukung, dengan penelitian yang dilakukan Sielma, Dear pada tahun 2015 mengatakan bahwa dosis brokoli 500 mg/KgBB, 1000 mg/KgBB, dan 2000 mg/KgBB mampu menurunkan MDA pada tikus yang di induksi DMBA, namun penurunan belum mampu mengembalikan ke normal tapi marn menurunkan hingga mendekati kontrol normal.

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

1. Monosodium Glutamat (MSG) dapat menurunkan kadar *Superoxide dismutase* (SOD) ovarium tikus putih (*Rattus norvegicus*).
2. Ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) dapat meningkatkan kadar *Superoxide dismutase* (SOD) ovarium tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dipapar monosodium glutamat (MSG).

3. Dosis efektif ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) dalam meningkatkan kadar *Superoxide dismutase* (SOD) ovarium tikus putih (*Rattus norvegicus*) adalah dosis ke-3 yaitu 2000 mg/kgBB.
4. Kenaikan dosis ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) diikuti dengan kenaikan kadar *Superoxide dismutase* (SOD) ovarium tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dipapar monosodium glutamat (MSG).

7.2 Saran

7.2.1 Penelitian Selanjutnya

1. Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai efek toksik dari brokoli
2. Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai pemberian brokoli terhadap peningkatan aktivitas SOD pada manusia.

7.2.2 Masyarakat

1. Dianjurkan mengurangi konsumsi monosodium glutamat yang berlebihan sebagai bahan penyedap rasa karena konsumsi monosodium glutamat yang berlebihan akan menimbulkan dampak negatif bagi tubuh khususnya pada organ reproduksi.
2. Dianjurkan mengkonsumsi brokoli yang dapat digunakan sebagai sumber antioksidan yang ⁶⁴ guna menangkal radikal bebas.

DAFTAR PUSTAKA

- Ardyanto, Tonang Dwi. 2004. MSG dan Kesehatan: Sejarah, Efek dan Kontroversinya. *Inovasi Kesehatan*, 1 (XVI): 52-56
- Akbar, Budhi. 2010. Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa Aktif Yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas. Jakarta: Adabia Press
- Al-Harbi Muhammad, Nahla S and Najwa O. Effect Of Monosodium Glutamate On Oxidative Damage In Male Mince: Modulatory Role Of Vitamn C. *Advances in Food Sciences*.36(4): 167-176.
- Arisman. 2009. Keracunan makanan: Buku Ajar Ilmu Gizi. Jakarta: EGC
- Anurogo D., dan Taruna Iklar. 2014. The Neuroscience Of Glutamat. *Ethical Digest*. (120): 55-61
- Akbarirad H., Gohari A., Kazemeini., and Moisavi K. 2016. An Overview On Some Of Important Source Of Natural Antioxidant. *International Food Research Journal*. 23 (3): 928-933
- Banjarnahor, Sofina and Nina Artanti. 2014. Antioxidant Properties of Flavonoid. *Mcd J Indones*. 23 (4): 239-243
- Biben H A. 2012. *Fitoestrogen: Khasiat Terhadap Sistem Reproduksi, Non Reproduksi dan Keamanan Penggunaanya*. Makalah disajikan dalam Seminar Ilmiah Nasional Estrogen Sebagai Sumber Hormon Alami di Universitas Padjajaran, Bandung, 31 Maret 2012
- Birben Esra., Umit Murat., and Cansin Sackesen. 2012. Oxidative Stress And Antioxidant Defense. *World Allergy Organization*
- Cartea Maria Elena, Marta Francisco, Pilar Soengas and Pablo Valasco. 2011. Phenolic Compounds in Brassica Vegetables. *Molecules* 16: 251-280
- Cristiana, Filip, Albu Elena, and Zamosteanu Nina. 2014. Superoxide Dismutase: Therapeutic Targets in SOD Related Pathology. *Scientific Research*. 6: 975:988
- Champbell N., Reece J., Urry, Cain, Wasserman, Minorsky, Jackson. 2008. Biologi Edisi Kedelapan Jilid 3. Penerbit Erlangga, Jakarta
- Contini M., Nestor M., Luisina R., and Stela M. 2012. Kidney And Liver Functions and Stress Oxidative Markers of Monosodium Glutamate-Induced Obese Rats. *Food and Public Health*. 2 (5): 168-177
- Dahlan S., 2011. Statistik Untuk Kedokteran Dan Kesehatan Edisi 5. Jakarta: Salemba Medika

- Dalimartha, Setiawan., 2000. Atlas Tumbuhan obat Indonesia. Jilid 2. Jakarta: Trubus Agriwidya
- Dalimartha, Setiawan., 2005. Tanaman Obat di Lingkungan Sekitar. Jakarta: Puspa Swara
- Devine, P J, Perreault and U Luderer. 2012. Roles of Reactive Oxygen Species and Antioxidant in Ovarian Toxicity. *Biology of Reproduction Journal*. 86(2): 27
- Dharma H. 2012. Peranan Antioksidan Endogen Dan Eksogen Terhadap Kesehatan. *CDK*. 39 (10): 793-794
- Dhiru. 2013. Live Blood Analysis Setetes Darah Anda Dapat Mengungkapkan Status Kesehatan dan Penyakit yang Mengancam Anda. Jakarta: PT Gramedia Pustaka
- Ermayanti, Dwi Ariani, dan Ni Wayan. 2016. *Struktur Histologi Hati Mencit (Mus musculus L.) Setelah Perlakuan Monosodium Glutamat (MSG)*. Prosiding Seminar Nasional Prodi Biologi Fakultas MIPA Universitas Udayana, Bali
- Eka, Reysa. 2013. Rahasia Mengetahui Makanan Berbahaya. Jakarta: Titik Media
- Farombi E.O and Onyema O.O. 2006. Monosodium Glutamate-Induced Oxidative Damage and Genotoxicity in The Rat: Modulatory Role of Vitamin C, Vitamin E and Quercetin. *Hum Exp Toxicol*. 25: 251-9
- Ganguly, Subha. 2017. MSG: An Overview On The ILL Effects Of The Ingredient In Human Food Chain. *International Journal Of Research Granthaalayah*, 3 (1): 59-60
- Husarova V., and Daniela O. 2013. Monosodium Glutamate Toxic Effect And Their Implications For Human Intake: Review. *JMED Research*, 2013 : 12
- IDE, PANGKALAN. 2011. Health Secret of Brocoli. Jakarta: PT Elex Media Komputindo
- IDE, PANGKALAN. 2008. Dark Chovolate Healing. Jakarta: PT Elex Media Komputindo
- Isnaeni W. 2006. Fisiologi Hewan. Yogyakarta(ID): Penerbit Kanisius.
- Kementerian perindustrian Republik Indonesia. 2016. Laporan Kerja Kementerian Perindustrian Tahun 2015. Biro perencanaan 2016, Jakarta, hal. 4
- Khashan Mahdi Hamza, and Zainab Shnewer Mahdi Al-Turfi. 2017. Effect of Alcoholic Extract of Brassica oleracea L.VAR Capita Plant Leaves On

Glucose Level and Antioxidant Activity in Alloxaninduced Diabetic Rats. *Scientific Journal of Medical Research*. 1(1):19-23

Lingga, Lanny. 2012. The Healing Power Of Antioxidant. Jakarta: Gramedia

Maluly H., Adriana P., and Felix G. 2017. Monosodium Glutamate As A Tool To Reduce Sodium In Foodstuffs: Technological and Safety Aspects. *Food Science & Nutrition*, 5:1039-1049

Manisha, Whidul Hasan, Richa Rajak and Deepali Jat. 2017. Oxidative Stress and Antioxidants: An Overview. *IJARR*. 2 (9): 110-119

Marks, Dawn B et al. 2000. Biokimia Kedokteran Dasar: Sebuah Pendekatan Klinis. Alih bahasa, Brahm U. Jakarta: EGC

Megawati, Dian, Sutarno dan Shanti Listyawati. 2005. Siklus Estrus dan Struktur Histologi Ovarium Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Setelah Pemberian Monosodium Glutamat (MSG) Secara Oral. *BioSmart*. 7(1): 47-52

Mohammed M., Sura M., Abdulkadir M., and Sarag I. 2015. Free Radicals And Human Health. *International Journal Of Innovation sciences And Research*. 4 (6): 218-233

Nalley, W.M.M., et al. 2011. *Determination of Estrus Cycle Based on Vaginal Cytology and Hormone Profile in Tomir Hind*. *Journal Veteriner*, 12(2)

Nurhayati Siti, Teja Kisnanto, dan Mukh Syaifuddin. 2011. Superoksida Dismutase (SOD): Apa Dan Bagaimana Peranannya Dalam Radioterapi. *Buletin Alara*. 13 (2): 67-74

Onyema O., Ebenezer O., Godwin O., Agwu I., and Godffrey O. 2006. Effect Of Vitamin E On Monosodium Glutamate Induced Hepatotoxicity and Oxidative Stress In Rats. *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics*, 43: 20-24

Pham-Huy L., Hue He., and Chuong P. 2008. Free Radicals, Antioxidants in Disease And Health. *International Journal of Biomedical Science*. 4 (2): 89-96

Praja, D.I., 2015. Zat Aditif Makanan Manfaat Dan Bahayanya. Yogyakarta: Garudhawaca

Prihatini, Sekar Gita. 2016. Pengantar Biostatistika. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang Press

Prihatin Broto Sukandar, Suryati K, dan Agus W. 2013. Siklus Estrus Dan Struktur Histologi Ovarium Tikus *Sprague dawley* Hipotiroid Dengan Induksi Propylthiouracil. *MGM*. 4(2):109-119.

Prochazkova D., Bousova., and Wilhelmova. 2011. Antioxidant And Prooxidant properties Of Flavonoid: Review. *ELSEVIER*

- Ramayulis, Rita., 2015. Green Smoothie Ala Rita Ramayulis: 100 Resep 20 Khasiat. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama
- Ratnani, R.D. 2009. Bahaya Bahan Tambahan Makanan Bagi Kesehatan. *Momentum*. 5 (1): 16-22
- Razali, Rezanita. 2014. Monosodium Glutamat (MSG) dan Efek Neurotoksisitasnya Pada Sistem Saraf Pusat. Bagian Fisiologi Fakultas kedokteran Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh
- Rizki, Farah., 2013. The Miracle of Vegetables. Jakarta: AgroMedia Pustaka
- Rukmana, Rahmat., 1994. Budidaya Kubis Bunga & Brokoli. Yogyakarta: Kanisius
- Rohmatussolihat. 2009. Antioksidan, Penyelamat Sel-Sel Tubuh Manusia. *Bio Trends*. 4(1): 5-9
- Sami, Fitriyanti Jumaetri dan Sitti Rahimah. 2015. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga Brokoli (Brassica oleracea L. Var. Italica) Dengan Metode DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl) dan Metode ABTS (2,2 azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonat)*. Jurnal Fitofarmako Indonesia, 1 (1)
- Sauders, W and Philadelphia P A. 1987. Sabiton's Essentials Of Sugery. Alih bahasa Petrus Andrianto dan Timan. Jakarta: EGC
- Septadina, Indri Seta. 2011. Perubahan Struktur Mikroskopis Ovarium Akibat Pemberian Monosodium Glutamat Pada Mencit (*Mus Musculus*) Betina Dewasa. *MKS*, 43 (1): 3129-3134
- Shan Wang, Guolin He, Meng Chen, Tao Zuo, Wenming Xu and Xinghui Liu. 2017. The Role of Antioxidant Enzymes in the Ovaries. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 14(2017)
- Sielma, Dear Farag. 2015. Efek Hepatoprotektif Ekstrak Etanol Brokoli (*Brassica oleracea L. Var. italica*) Terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Hepar Tikus Putih Galur Wistar Yang Diinduksi DMBA (7,2-Dimethylbenz(a)anthracene). Fakultas Kedokteran Universitas Jember
- Sirotkin A., and Abdel H. 2014. Phytoestrogens and Their Effects. *European Journal of Pharmacology*. 741(2014): 230-236
- Singh, Monica. 2005. Fact Or Fiction? The MSG Controversy. *Harvard Law School*.
- Simanjuntak, Kristina. 2012. Peran Antioksidan Flavonoid Dalam Meningkatkan kesehatan. *Bina Widya*, Vol 23 (3), 135-140, Fakultas Kedokteran UPN "Veteran", Jakarta

- Smriga Miro. 2016. Food-Added Monosodium Glutamate Does Not Alter Brain Structure Or Antioxidant Status. *ELSEVIER*. 23 (2016): 303-305
- Strehlow K., Simone R., Sven W., Oliver A., Christian Grohe., Kerstin L., Michael B., and Georg N. 2003. Modulation Of Antioxidant Enzyme Expression And Function By Estrogen. *Circ Res*, 93:170-177
- Soimah, Laelatul. 2016. Morfometri Organ Reproduksi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Betina Pasca Melahirkan Dengan Pemberian Infus Daun Adas (*Foeniculum vulgare* Mill.). Skripsi. Fakultas Sains Dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga, Yogyakarta
- Tobing, Hayatifunus. 2009. Yang Benar Dan Salah Tentang MSG: Masak Sehat Dengan Bumbu Penyedap (MSG). Jakarta: Gramedia
- Walker, R and Lupien. 2000. Glutamate Safety In The Food Supply. *American society For Nutritional Sciences*
- Werdhasari Asri. 2014. Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*. 3 (2): 59-68
- Winarsi, Hery. 2007. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas. Yogyakarta: Kanisius
- Yueniwati, Yuyun. 2015. Deteksi Dini Stroke Iskemia Dengan Pemeriksaan Ultrasonografi Vaskular Dan Variasi Genetika. Malang: UB Press
- Yonata, Ade dan Indah Iswara. 2016. Efek Toksik Konsumsi Monosodium Glutamate. *Majority*. 4 (3)
- Young I S and J V Woodside. 2001. Antioxidants in Health And Disease. *J Clin Pathol*. 54 : 176-186
- Zulaikhan Siti T. 2017. The Role Of Antioxidant to Prevent Free Radicals In The Body. *Sains Medika*, 8 (1): 39-45

LAMPIRAN

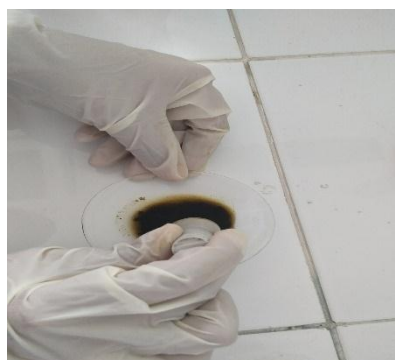
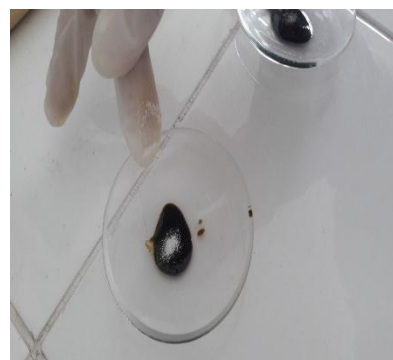
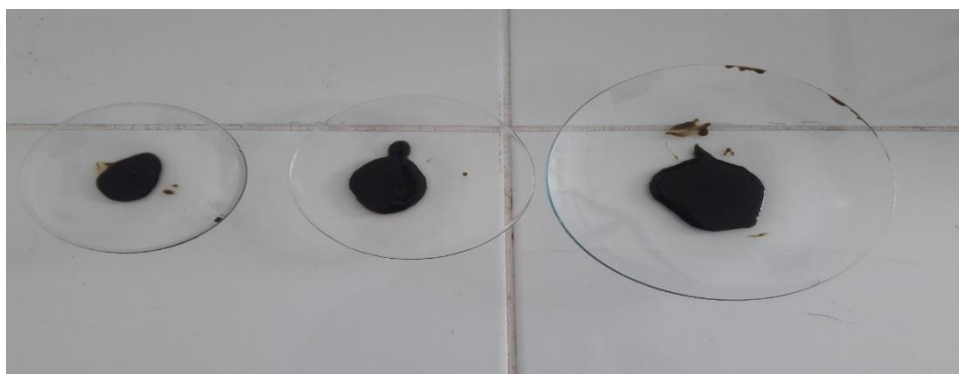
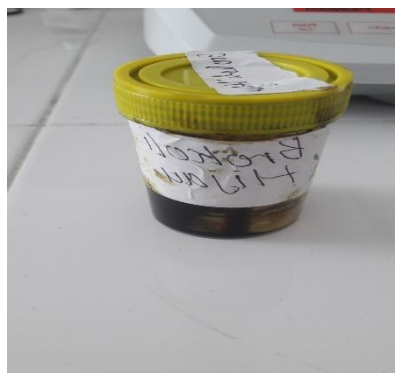
Lampiran 1: Dokumentasi Kegiatan

1. Pembuatan Ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*)

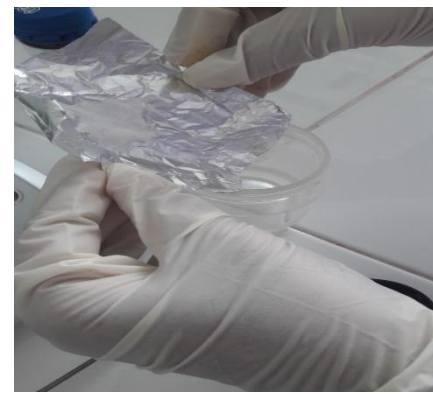


71

2. Pembuatan Larutan ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*)

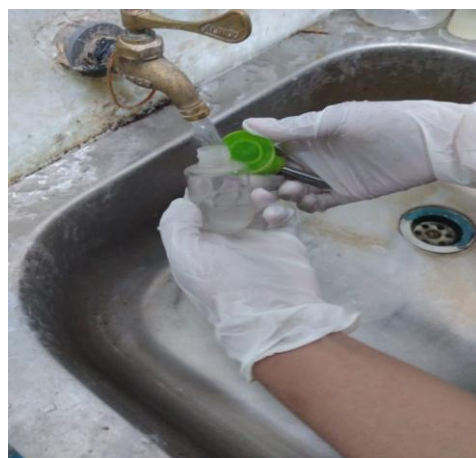


3. Pembuatan Larutan monosodium glutamat (MSG)



4. Pemeliharaan Tikus

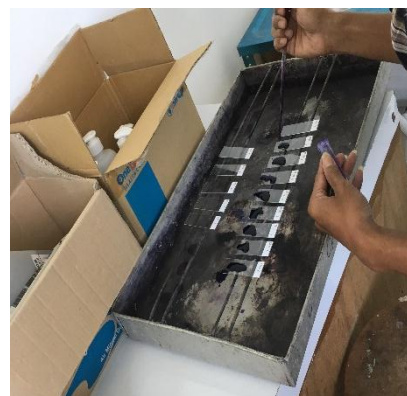


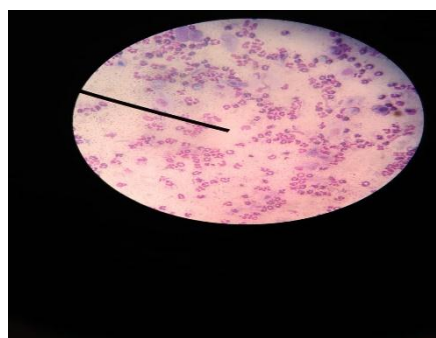
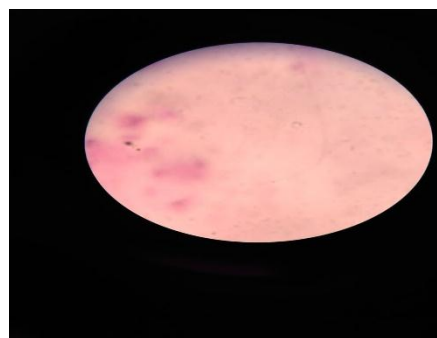
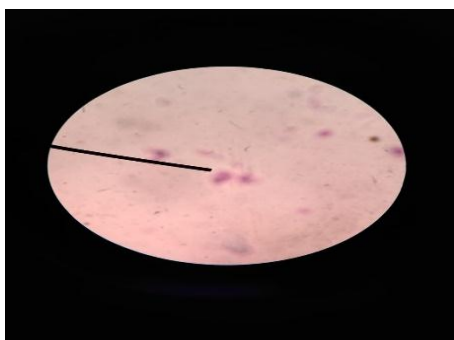


5. Perlakuan Tikus



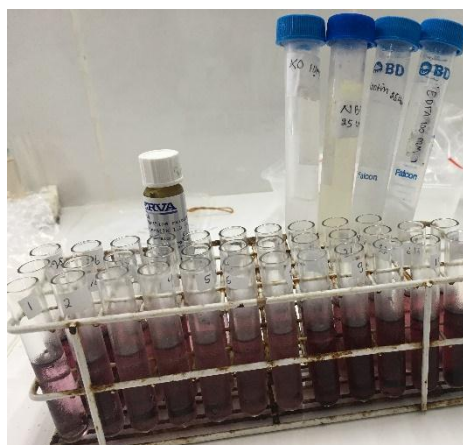
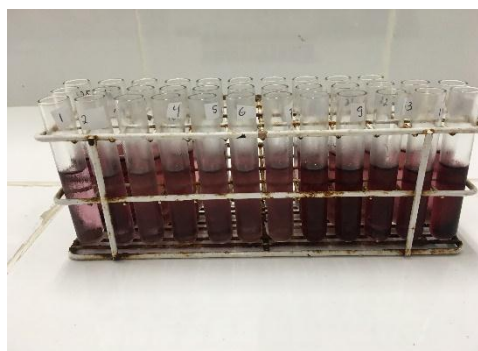
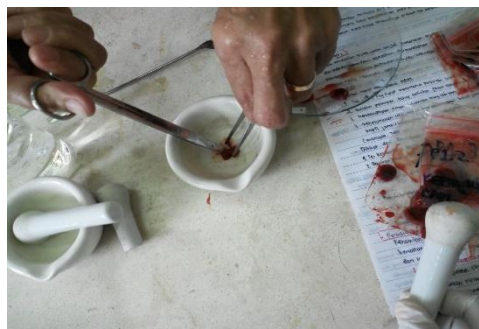
6. Swab Vagina







7. Terminasi



8. Preparat SOD

Lampiran 2: Data Pengukuran SOD

Kode	Abs SOD	Kadar SOD (Unit/100 mg)
K- 1	0,352	44,144
K- 2	0,354	43,964
K- 3	0,336	45,586
K- 4	0,327	46,396
K- 5	0,298	49,009
K- 6	0,298	49,009
K+ 1	0,595	22,252
K+ 2	0,766	6,847
K+ 3	0,751	8,198
K+ 4	0,670	15,495
K+ 5	0,706	12,252
K+ 6	0,727	10,360
KP1.1	0,465	33,964
KP1.2	0,403	39,550
KP1.3	0,398	40,000
KP1.4	0,388	40,901
KP1.5	0,425	37,568
KP1.6	0,375	42,072
KP2.1	0,347	44,595
KP2.2	0,402	39,640
KP2.3	0,407	39,189
KP2.4	0,322	46,847
KP2.5	0,37	42,523
KP2.6	0,361	43,333
KP3.1	0,39	40,721
KP3.2	0,381	41,532
KP3.3	0,389	40,811
KP4.4	0,317	47,297
KP5.5	0,302	48,649

KP6.6	0,298	49,009
-------	-------	--------

Lampiran 3: Hasil Analisa Data

Uji Normalitas

Tests of Normality

	Kolmogorov -Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
SOD	.149	30	.088	.949	30	.155

a. Lilliefors Significance Correction

Oneway

Descriptives

SOD

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K Neg	6	46.3513	2.24881	.91807	43.9913	48.7113	43.96	49.01
K Pos	6	12.5673	5.64179	2.30325	6.6466	18.4880	6.85	22.25
P1	6	37.1173	3.99007	1.62894	32.9300	41.3047	30.72	40.90
P2	6	42.6878	2.92952	1.19597	39.6135	45.7622	39.19	46.85
P3	6	44.6698	4.04707	1.65221	40.4227	48.9170	40.72	49.01
Total	30	36.6787	13.18216	2.40672	31.7564	41.6010	6.85	49.01

Test of Homogeneity of Variances

SOD

Levene Statistic	df 1	df 2	Sig.
1.597	4	25	.206

ANOVA

SOD

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4650.469	4	1162.617	74.749	.000
Within Groups	388.843	25	15.554		
Total	5039.312	29			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: SOD

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K Neg	K Pos	33.7840*	2.27697	.000	27.0968	40.4712
	P1	9.2340*	2.27697	.004	2.5468	15.9212
	P2	3.6635	2.27697	.506	-3.0237	10.3507
	P3	1.6815	2.27697	.945	-5.0057	8.3687
K Pos	K Neg	-33.7840*	2.27697	.000	-40.4712	-27.0968
	P1	-24.5500*	2.27697	.000	-31.2372	-17.8628
	P2	-30.1205*	2.27697	.000	-36.8077	-23.4333
	P3	-32.1025*	2.27697	.000	-38.7897	-25.4153
P1	K Neg	-9.2340*	2.27697	.004	-15.9212	-2.5468
	K Pos	24.5500*	2.27697	.000	17.8628	31.2372
	P2	-5.5705	2.27697	.136	-12.2577	1.1167
	P3	-7.5525*	2.27697	.021	-14.2397	-.8653
P2	K Neg	-3.6635	2.27697	.506	-10.3507	3.0237
	K Pos	30.1205*	2.27697	.000	23.4333	36.8077
	P1	5.5705	2.27697	.136	-1.1167	12.2577
	P3	-1.9820	2.27697	.905	-8.6692	4.7052
P3	K Neg	-1.6815	2.27697	.945	-8.3687	5.0057
	K Pos	32.1025*	2.27697	.000	25.4153	38.7897
	P1	7.5525*	2.27697	.021	.8653	14.2397
	P2	1.9820	2.27697	.905	-4.7052	8.6692

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

SOD

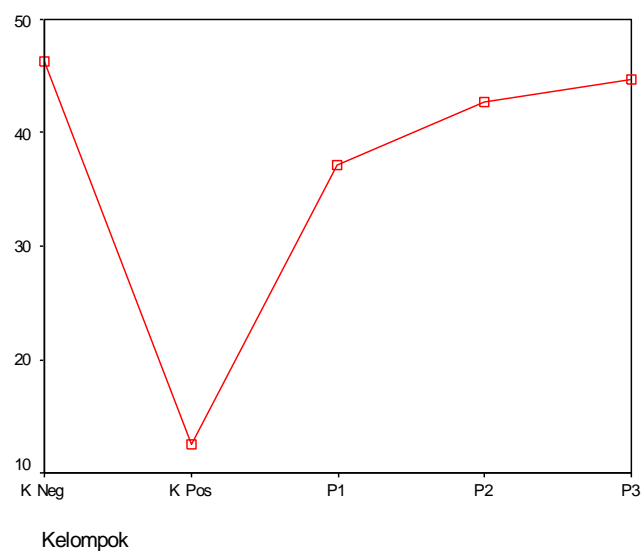
Tukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
K Pos	6	12.5673		
P1	6		37.1173	
P2	6		42.6878	42.6878
P3	6			44.6698
K Neg	6			46.3513
Sig.		1.000	.136	.506

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

Means Plots



Nonparametric Correlations

Correlations

			Dosis	SOD
Spearman's rho	Dosis	Correlation Coefficient	1.000	.856**
		Sig. (2-tailed)	.	.000
		N	24	24
	SOD	Correlation Coefficient	.856**	1.000
		Sig. (2-tailed)	.000	.
		N	24	24

**. Correlation is significant at the .01 level (2-tailed).

Lampiran 4: Surat Keterangan Laik Etik



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS KEDOKTERAN
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN

Jalan Veteran Malang - 65145, Jawa Timur - Indonesia
Telp. (62) (0341) 551611 Ext. 168; 569117; 567192 - Fax. (62) (0341) 564755
<http://www.fk.ub.ac.id> e-mail : kep.fk@ub.ac.id

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
("ETHICAL CLEARANCE")**

No. 16 / EC / KEPK – S1 – KB / 01 / 2019

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA,
SETELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN,
DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN

JUDUL : Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Brokoli (*Brassica oleracea*) terhadap Kadar SOD dan Jumlah Folikel Ovarium, Jumlah Sel Epitel Sekretorik dan Tebal Lapisan Otot Polos Tuba Fallopi, Jumlah Arteriol dan Ketebalan Endometrium Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Strain Wistar Betina yang Dipapar Monosodium Glutamat (MSG).

PENELITI : Annisa Istighfari Hernanda R
Flora Nunjil Naprilla
Novi Dwi Palupi
Onnitia Dwi Putri Chusyairi
Theresia Maria Derosari T

UNIT / LEMBAGA : S1 Kebidanan – Fakultas Kedokteran – Universitas Brawijaya Malang.

TEMPAT PENELITIAN : Laboratorium Farmakologi, Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

DINYATAKAN LAIK ETIK.



Prof. Dr. dr. Moch. Istiadjid ES, SpS, SpBS(K), SH, M.Hum, Dr(Hk)
NIPK. 20180246051611001

Catatan :

Keterangan Laik Etik Ini Berlaku 1 (Satu) Tahun Sejak Tanggal Dikeluarkan
Pada Akhir Penelitian, Laporan Pelaksanaan Penelitian Harus Diserahkan Kepada KEPK-FKUB Dalam Bentuk Soft Copy.
Jika Ada Perubahan Protokol Dan / Atau Perpanjangan Penelitian, Harus Mengajukan Kembali Permohonan Kajian Etik Penelitian (Amandemen Protokol).

Lampiran 5: Surat Keterangan Plagiasi



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
 UNIVERSITAS BRAWIJAYA
 FAKULTAS KEDOKTERAN
 Jalan Veteran Malang – 65145, Jawa Timur - Indonesia
 Telp. (0341) 551611 Pes. 213.214; 569117, 567192 – Fax. (62) (0341) 564755
<http://www.fk.ub.ac.id> e-mail : sekr.fk@ub.ac.id

SURAT KETERANGAN

Nomor : 210 /UN10.F08.08/PN/2019

Berdasarkan pemindaian dengan perangkat lunak Turnitin, Badan Penerbitan Jurnal (BPJ)
 Fakultas Kedokteran menyatakan bahwa Artikel Ilmiah berikut :

Judul : Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Brokoli (*Brassica oleracea*) Terhadap
 Kadar *Superoxide Dismutase* (SOD) Ovarium Tikus Putih (*Rattus
 norvegicus*) Galur Wistar Yang Dipapar Monosodium Glutamat (MSG)

Penulis : Novi Dwi Palupi

NIM : 155070601111030

Jumlah Halaman : 5

Jenis Artikel : Tugas Akhir (Program Studi Sarjana Kebidanan)

Kemiripan : 8 %

Demikian surat keterangan ini agar dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

15 MAY 2019

Ketua Badan Penerbitan Jurnal,

 Dr. Husnul Khotimah, S.Si, M.Kes
 NIP.19751125 200501 2 001

Lampiran 6: Lembar Konsultasi Dosen Pembimbing

KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS KEDOKTERAN
TUGAS AKHIR

Jalan Veteran Malang - 65145, Jawa Timur - Indonesia
Telp. (62) (0341) 551611 Ext. 213.214; 569117; 567192 - Fax. (62) (0341) 564755
<http://fk.ub.ac.id/tugasakhir> e-mail : tugasakhir.fk@ub.ac.id

Form TA 04

LEMBAR KONSULTASI TUGAS AKHIR

Nama : NOVI DWI PALUPI
N I M : 1656706011630
Program Studi : S1 Kebidanan
Judul Tugas Akhir : Pengaruh Pemberian Ekstrol Ekstrol Berakut (Berakut ekstrak) Terhadap Kadar GLD (Glukosa darah) dan HbA1c (Hemoglobin A1c) pada Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2 (DM Tipe 2) yang Dirawat di Rumah Sakit (RS) ...
Pembimbing I : Dr. dr. Nurdiana, M. Kes
Pembimbing II : Nur Ain, S. Ningsih, M. Kes

Tgl	Pembimbing I / II	Topik Pembahasan	Saran Pembimbing	Tanda Tangan
22/2019 9	I	Konsultasi BAB 1-6	Revisi BAB 5 dan 6	
8/2019 5	I	Konsultasi BAB 5-6, BAB 7	Revisi BAB 6-7	
9/2019 5	I	Konsultasi BAB 6-7 Revisi Jurnal	Revisi BAB 6 Revisi Jurnal	
9/2019 5	I	Konsultasi Revisi Jurnal Revisi BAB 1-7	Revisi BAB 6	
10/2019 5	I	Konsultasi BAB 1-7	Acc Nyan	

*) coret yang tidak perlu



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS KEDOKTERAN
TUGAS AKHIR

Jalan Veteran Malang - 65145, Jawa Timur - Indonesia
Telp. (62) (0341) 551611 Ext. 213.214; 569117; 567192 - Fax. (62) (0341) 564755
http://fk.ub.ac.id/tugasakhir e-mail : tugasakhir.fk@ub.ac.id

Form TA 04

LEMBAR KONSULTASI TUGAS AKHIR

Nama : NIM. DWI. PAWANI
N I M : 1550206001232
Program Studi : S1 Kebidanan
Judul Tugas Akhir : Pengaruh Pembedaan Elektrolit Elektrolit Tubuh (Bovine eleazar) Terhadap Labor Sg (Superoxide dismutase) Ovarium Tikus Putih (Rattus norvegicus) Galur Putih Yang Dipaparkan Monosodium Glutamat (MSG)
Pembimbing I : Dr. dr. Nurhanna, M.ka
Pembimbing II : Nur. Ayu Retno H. Sst. M.ka

Tgl	Pembimbing I / II	Topik Pembahasan	Saran Pembimbing	Tanda Tangan
27/2019 / 5	ii	Bab V - VII	Revisi Bab V - VII	
7/2019 / 5	ii	Bab V - VII Log Book	Revisi Bab V - VII Log Book	
8/2019 / 5	ii	Bab V - VII Jurnal	Revisi	
9/2019 / 5	ii	Bab I - VII	Am	

*) coret yang tidak perlu